

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE, FARMACEUTICKÁ FAKULTA
V HRADCI KRÁLOVÉ**

KATEDRA FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

OXIDAČNÍ STRES A JEHO ROLE V RESPIRAČNÍCH ONEMOCNĚNÍCH

(Oxidative stress and its role in respiratory diseases)

Autor diplomové práce:

Jana Zakouřilová

Vedoucí diplomové práce:

PharmDr. Jana Pourová, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ 2009

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Oxidační stres a jeho role v respiračních onemocněních vypracovala samostatně a použila výhradně literatury a pramenů uvedených v závěru této práce.

V Olomouci dne 26. 4. 2009

.....
Jana Zakouřilová

Abstrakt

Volné radikály jsou nezbytnou součástí běžných fyziologických metabolických procesů v organismu. Zapojují se do ochrany organismu před cizorodými částicemi, účastní se mnoha chemických reakcí, jsou substráty pro mnoho enzymů, mají signální funkci, zprostředkovávají vazodilataci či se podílí na reprodukčním procesu. Všechny tyto funkce však musí být pod neustálou a přísnou kontrolou antioxidačních mechanismů, protože volné radikály jsou rovněž značně reaktivní látky, které pokud se vymknou antioxidační kontrole, mohou způsobit vážná poškození genetické informace, molekul, tkání či regulačních mechanismů nebo se na nich alespoň z části podílet. Antioxidační ochrana organismu se i v případě již probíhající nemoci snaží negativní účinky volných radikálů kompenzovat. Jedná se o velmi složité a komplexní mechanismy, které spolupracují a vzájemně se potencují.

Nadprodukce volných radikálů má také podíl na patogenezi mnoha onemocnění respiračního systému (např. chronická obstrukční plicní nemoc, asthma bronchiale, syndrom dechové tísně dospělých, rakovina plic). V rámci terapie onemocnění s předpokládanou nadprodukcí volných radikálů jsou někdy podávány antioxidanty. Aby však bylo toto podání terapeuticky úspěšné, je potřeba vždy přesně zhodnotit aktuální stav organismu a také plně respektovat komplexnost působení antioxidantů směřujícího k obnovení rovnováhy oxidačně-antioxidačního systému. Avšak zatím nám v mnoha ohledech chybí potřebné informace. Oxidačně-antioxidační systém a možnosti zásahu do redoxní rovnováhy jsou stále předmětem výzkumu.

Abstract

Free radicals are essential part of common physiological metabolic processes in the organism. They are involved in the protection of the organism from heterogeneous elements, participate in many chemical reactions, serve as substrates for a number of enzymes, have a signal function, mediate vasodilatation and also participate in reproduction. However all these functions must be under continuous and strict control of antioxidant mechanisms because free radicals are also highly reactive substances. Failure of antioxidant control mechanisms can give rise to or at least contribute to serious damage of genetic information, molecules, tissues or regulatory mechanisms. The purpose of antioxidant protection of the organism is to counteract the negative effect of free radicals, even during and ongoing disease. The system is extremely complex, its individual components cooperate and sometime are in synergy with one another. The overproduction of free radicals can participate in the pathogenesis of many diseases of the respiratory system (for example: COPD, asthma bronchiale, ARDS, lung cancer). In the treatment of the diseases with suspected overproduction of free radicals, antioxidants may also be administered during therapy. To achieve good results, exact assesement of the actual condition of the organism seems to be necessary. At the same time, it is important to take into account the complexity of antioxidant action leading to the restoration of the oxidant-antioxidant balance. However, the important information are still missing. The oxidant-antioxidant system and the possibilities of redox balance maintenance are subjects of intense investigation.

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří PharmDr. Janě Pourové, Ph.D., za odborné vedení práce a poskytování cenných rad a připomínek.

OBSAH

ÚVOD	8
I. VOLNÉ RADIKÁLY	10
A) ROZDĚLENÍ VOLNÝCH RADIKÁLŮ	11
1. Radikály odvozené od kyslíku	11
2. Radikály odvozené od dusíku	12
3. Radikály odvozené od organických sloučenin	13
4. Atomy přechodných kovů jako radikály	13
B) VZNIK VOLNÝCH RADIKÁLŮ	14
1. Autooxidace	15
2. Fotooxidace	15
3. Oxidoreduktázy nebo elektronové transportní řetězce	15
4. Indukovatelné enzymy ve spojení s xenobiotiky a léky	16
5. Dekompartmentalizace	16
C) ÚČINKY VOLNÝCH RADIKÁLŮ	16
1. Pozitivní účinky volných radikálů	17
2. Negativní účinky volných radikálů	18
II. ANTIOXIDAČNÍ OCHRANNÝ SYSTÉM ORGANISMU	21
A) ROZDĚLENÍ ANTIOXIDANTŮ (AO)	21
B) CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITA	25
C) PŘÍKLADY JEDNOTLIVÝCH ANTIOXIDANTŮ	26
1. Enzymové antioxidanty	27
2. Neenzymové vysokomolekulární antioxidanty	32
3. Neenzymové nízkomolekulární antioxidanty	35
4. Polyfenolické antioxidanty	40
D) VZTAHY MEZI ANTIOXIDANTY	41
III. ONEMOCNĚNÍ RESPIRAČNÍHO SYSTÉMU	44
A) CHRONICKÁ OBSTRUKČNÍ PLICNÍ NEMOC (CHOPN)	45
1. Epidemiologie	45
2. Etiologie a patogeneze	45
3. Zánětlivé změny	49
4. Role oxidačního stresu	50
5. Využití antioxidantů v terapii CHOPN	53

B) ASTHMA BRONCHIALE (AB)	55
1. Epidemiologie.....	55
2. Etiologie a patogeneze	56
3. Zánětlivé změny.....	58
4. Role oxidačního stresu	59
5. Využití antioxidantů v terapii AB.....	63
C) SYNDROM DECHOVÉ TÍSNĚ DOSPĚLÝCH (ARDS)	66
1. Epidemiologie.....	66
2. Etiologie a patogeneze	67
3. Zánětlivé změny.....	70
4. Role oxidačního stresu	71
5. Využití antioxidantů v terapii ARDS.....	74
D) RAKOVINA PLIC	75
1. Epidemiologie.....	76
2. Etiologie a patogeneze	77
3. Zánětlivé změny.....	78
4. Role oxidačního stresu	79
5. Využití antioxidantů v terapii rakoviny plic	82
E) IDIOPATICKÁ PLICNÍ FIBRÓZA (IPF)	84
1. Epidemiologie.....	84
2. Etiologie a patogeneze	85
3. Zánětlivé změny.....	87
4. Role oxidačního stresu	87
5. Využití antioxidantů v terapii	90
F) KOUŘENÍ	92
ZÁVĚR	98
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ	100
SEZNAM UŽITÝCH ZKRATEK	105

ÚVOD

„Všechny dýchající organismy se dostaly do krutého svazku, ve kterém kyslík, který je udržuje při životě, je toxickou substancí, v přítomnosti které přežívají jedině silou vypracovaných systémů obrany.“

Irwin Fridovich

Volné radikály vznikají v organismu fyziologicky a jsou důležité pro řadu dějů. V nadměrném množství však mohou mít velmi negativní účinky a účastnit se patogeneze řady nemocí (mutace, nádorová onemocnění, diabetické neuropatie, vaskulární onemocnění atd.). Oxidační stres se podílí pravděpodobně také na patogenezi mnoha respiračních onemocnění, mezi které patří například chronická obstrukční plicní nemoc, chronická bronchitida, plicní emfyzém, asthma bronchiale či syndrom dechové tísně dospělých. Celá dýchací soustava byla v roce 2004 na čtvrtém místě mezi příčinami úmrtí v ČR (za oběhovou soustavou, nádory a vnějšími příčinami – poranění, otravy). Pokud bychom mezi příčiny zahrnuli rovněž podíl nádorů dýchacích cest, posunula by se úmrtí související s dýchací soustavou na druhé místo. Přestože se úmrtnost na některé nemoci dýchací soustavy snižuje (astma či chřipka) nebo alespoň stagnuje (rakovina plic u mužů), u některých onemocnění dochází naopak k jejímu nárůstu (u CHOPN se v roce 2005 oproti roku 2004 zvýšila o 30 %) ¹. Z těchto údajů vyplývá, že respirační onemocnění patří k jednomu z nejzávažnějších v naší společnosti. Proto je velmi důležité snažit se objasnit podstatu jejich patogeneze a určit všechny etiologické faktory, včetně zapojení a mechanismu působení volných radikálů, jejichž vliv začíná v důsledku značné průmyslové činnosti, dopravy, ale i lidských zlozvyků (jako např. kouření) narůstat.

V dnešní době jsou volné radikály, oxidační stres a antioxidanty velmi diskutovanou a publikovanou záležitostí. Cílem mé diplomové práce se proto stalo podání uceleného přehledu problematiky týkající se volných radikálů, antioxidantů a jejich role v nejzávažnějších a nejrozšířenějších respiračních

¹ VONDRA, V., MALÝ, M. Závažné epidemiologické informace o nemocech dýchacího ústrojí na počátku třetího tisíciletí ve světě (i u nás). *Medicína po promoci*, 2007, Suppl. 1, str. 4-8.

onemocněních. Zároveň považuji za podstatné zmínit rovněž význam kouření a jeho úlohu v patogenezi poškození dýchacích cest.

Diplomová práce je rozdělena do tří hlavních částí. V první části se věnuji teorii volných radikálů jako zprostředkovatelů fyziologických i patologických procesů v organismu, přičemž samotný výklad není pochopitelně vyčerpávající. Zaměřila jsem se zejména na objasnění nejdůležitějších faktů a to z hlediska pozdějšího pochopení významu volných radikálů v patogenezi konkrétních onemocnění respiračního systému. Druhá část se týká antioxidantů, jejich hlavních charakteristik, reakcí a významu pro organismus, v níž rozsah rovněž odpovídá záměru mé práce. Ve třetí části jsem se zaměřila na konkrétní onemocnění respiračního systému. Hlavní částí podkapitol týkajících se jednotlivých nemocí je objasnění role oxidačního stresu a zánětu v patogenezi a možnosti použití antioxidantů v terapii těchto onemocnění. Přesto jsem však považovala za nutné zmínit rovněž základní epidemiologii, etiologii a patogenezi těchto klinických jednotek, protože volné radikály často pouze navazují na poškození vzniklé jinými než oxidativními mechanismy. Do třetí části jsem také zařadila podkapitolu zabývající se vlivem kouření na poškození respiračního systému a jeho souvislostí s konkrétními nemocemi.

Téma, které jsem si pro svou práci zvolila, považuji za vhodné vzhledem k faktu, že problematikou volných radikálů se zabývá mnoho autorů, avšak ucelený přehled jejich vlivu konkrétně na respirační systém, dle mého názoru, chybí. Zároveň je mi blízké, protože i v mojí rodině se vyskytuje onemocnění respiračního systému související s nadprodukcí volných radikálů.

I. VOLNÉ RADIKÁLY

Jedná se o chemické látky (atomy, molekuly či ionty), které mají ve svém elektronovém obalu jeden nebo dva nepárové elektrony a které jsou schopné, třeba jen na velmi krátkou chvíli, samostatné existence. Mohou mít elektroneutrální, ale také kationtový nebo aniontový charakter². Přirozenou snahou volných radikálů (VR) je doplnit nepárové elektrony, aby došlo ke stabilizaci jejich konfigurace. A právě z tohoto faktu vyplývá jejich značná reaktivita a krátká doba existence. Některé volné radikály mají poločas rozpadu řádově pouze několik milisekund.

Tab. 1 Příklady reaktivních forem kyslíku (ROS) a jejich biologických poločasů³

ROS	Vzorec	Biologický poločas
Hydroxylový radikál	$\cdot\text{OH}$	10^{-9}s
Alkoxylový radikál	$\text{RO}\cdot$	10^{-6}s
Singletový kyslík	$^1\text{O}_2$	10^{-5}s
Peroxidový radikál	$\text{ROO}\cdot$	7s
Radikál oxidu dusnatého	$\cdot\text{NO}$	1 - 10s
Semichinonový radikál	$\text{Q}\cdot$	dny
Peroxid vodíku	H_2O_2	dle aktivity katalázy a peroxidázy
Superoxidový radikál	$\text{O}_2\cdot$	dle aktivity superoxiddismutázy

Volný radikál může chybějící elektron získat, setká-li se s jiným radikálem. Mnohem častěji však k doplnění nepárových elektronů dochází vytržením elektronu z intaktní molekuly. Z té se pak také stává radikál, může napadat jinou sloučeninu a přeměnit ji na radikál. Radikálová reakce se tím propaguje do okolí, čímž se odstartuje řetězová reakce, která vede k poškození řady molekul

² ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 15

³ RACEK, J., HOLEČEK, V. Vznik volných radikálů a enzymy. Klinická biochemie a metabolismus, 1999, 7 (28), No. 3, str. 158-163

(např. lipidů v lipoproteinech, nukleových kyselin i bílkovin včetně enzymů). K ukončení řetězové reakce dojde, setkají-li se dva radikály, častěji však tehdy, setká-li se volný radikál s látkou, jejíž radikál je dostatečně stabilní a může přetrvávat delší dobu ⁴.

Ke vzniku volného radikálu z „normální“ molekuly může dojít v podstatě trojím způsobem: homolytickým štěpením kovalentní chemické vazby (každý fragment získá jeden nepárový elektron), nebo přidáním jednoho elektronu k elektroneutrální molekule (redukce), či naopak ztrátou jednoho elektronu (oxidace). Vznik radikálu oxidací nebo redukcí je však energeticky výhodnější, a proto v organismu preferovaný. Naopak k homolytickému štěpení je nutné dodat značné množství energie (např. vysoká teplota, ultrafialové nebo ionizační záření), proto k němu v biologických systémech téměř nedochází ⁵.

A) ROZDĚLENÍ VOLNÝCH RADIKÁLŮ

Volné radikály mohou být odvozeny od kyslíku, dusíku nebo organických sloučenin, přičemž nejvíce jsou zatím v biologických systémech prostudované radikály odvozené od kyslíku. Jako radikály se však mohou chovat také atomy přechodných (tranzitních) kovů, jako jsou např. železo, měď, nikl, mangan, titan a další.

1. Radikály odvozené od kyslíku

Volné radikály odvozené od kyslíku vznikají jeho redukcí. Nejběžnější je superoxidový aniontový radikál (zkráceně superoxid), který je vytvářen univalentní (jednoelektronovou) redukcí molekulového kyslíku. Označuje se jako $O_2^{\cdot -}$. Vyznačuje se poměrně nízkou rozpustností v tucích, což spolu s krátkou dobou existence omezuje možnost jeho difúze z místa vzniku ⁶. V řadě dalších reakcí je $O_2^{\cdot -}$ přeměňován na množství velmi reaktivních sloučenin, z nichž

⁴ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 9

⁵ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing. 2000, str. 22-23

⁶ SKLENOVSKÝ, A. Pokroky v patologické fyziologii II. Význam volných kyslíkových radikálů pro etiopatogenezu chorob. Rektorát Univerzity Palackého v Olomouci, 1992, str. 8

některé jsou radikály. Nejnebezpečnějším produktem přeměny superoxidového radikálu je radikál hydroxylový ($\cdot\text{OH}$), který má extrémně krátký biologický poločas (viz. tab. 1) a zaniká napadením molekul prakticky v místě svého vzniku.

Dalšími reakcemi mohou z volných radikálů kyslíku vznikat jiné reaktivní látky, v jejichž konfiguraci se však již nevyskytuje nepárový elektron. Příkladem může být peroxid vodíku nebo kyselina chlorná. Tyto látky se spolu s volnými radikály shrnují pod společným názvem reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species, ROS) ⁷. Mezi radikály můžeme zařadit také molekulu kyslíku, která obsahuje dva nepárové elektrony. Tato molekula je ovšem relativně málo reaktivní, protože její elektrony jsou souhlasně spinově orientovány. Reaktivita molekuly kyslíku může být ale významně zvýšena, pokud dojde k přemístění jednoho z nepárových elektronů do stavu s vyšší energetickou hladinou a změnou jeho spinu. Tímto způsobem vznikne tzv. singletový kyslík ($^1\text{O}_2$) ⁸.

V organismu se vyskytují i radikály, jejichž volný elektron patří jinému atomu než kyslíku, nejčastěji dusíku.

2. Radikály odvozené od dusíku

Nejběžnějším představitelem této skupiny radikálů je oxid dusnatý ($\cdot\text{NO}$). Tato jednoduchá a přitom velmi účinná molekula má v organismu mnoho fyziologických funkcí (např. funguje jako posel pro centrální a periferní neurony, udržuje tonus cév a tím reguluje krevní tlak, je součástí systémů na ochranu organismu proti bakteriím, prvkům a nádorům či zasahuje do procesů nespecifické imunity - do fagocytózy nebo zánětlivých reakcí) ⁹. Oxid dusnatý může také poskytovat mnoho sloučenin, které mají charakter volných radikálů a to i bez nepárového elektronu. Tyto sloučeniny pak souhrnně označujeme jako reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species, RNS). Kromě oxidu dusnatého k nejdůležitějším RNS patří peroxyinitrit (OONO^-), nitrosylový kation (NO^+), nitroxylátový anion (NO^-) nebo radikál oxidu dusičitého ($\text{NO}_2\cdot$) ¹⁰.

⁷ RACEK, J., HOLEČEK, V. Vznik volných radikálů a enzymy. Klinická biochemie a metabolismus, 1999, 7 (28), No. 3, str. 158-163.

⁸ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 10-11

⁹ ĎURÁČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 39

¹⁰ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 11

3. Radikály odvozené od organických sloučenin

Organické radikály vznikají homolytickým štěpením kovalentní vazby nebo v reakcích, při kterých dochází k přenosu elektronu. Organických látek, které mohou mít nepárový elektron, je mnoho. Tyto radikály vznikají např. po působení fyzikálních iniciátorů (při ozáření), chemických promotorů, nebo různých zplodin životního prostředí. Značná část těchto radikálů však pochází také z reakcí všeobecného metabolismu a to jak fyziologických, tak patologických. Jako příklad mohu uvést vznik semichinonového radikálu při přenosu elektronů v dýchacím řetězci či vznik askorbátového radikálu při detoxikačních reakcích kyseliny askorbové. Do skupiny radikálů odvozených od organických sloučenin můžeme zahrnout také alkylsulfanylový radikál (RS^\bullet), který vzniká oxidací thiolů v přítomnosti iontů přechodných prvků nebo alkylperoxylový radikál (ROO^\bullet)¹¹.

4. Atomy přechodných kovů jako radikály

Jako radikály se mohou chovat i atomy přechodných (tranzitních) kovů, jako např. železo, měď, nikl, mangan, titan a další. Tyto kovy mají neúplně obsazenou předposlední slupku elektronového obalu, proto velmi ochotně reagují s ROS. K nejdůležitějším reakcím přechodných kovů s ROS patří reakce např. železa s peroxidem vodíku: $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO^\bullet + OH^- + Fe^{3+}$. V této Haberově-Weissově reakci, známé spíše jako Fentonova reakce, vystupuje železo jako katalyzátor a produktem reakce je vysoce toxický hydroxylový radikál. Po ukončení této reakce redukuje superoxid trojmocné železo zpět na dvojmocné, které je tím regenerováno pro další katalýzu. Ovšem přechodné kovy se účastní vzniku reaktivních forem kyslíku pouze pokud nejsou vázány v bezpečných depozitních formách, jako je např. železo ve feritinu a v transferinu nebo měď v ceruloplazminu. Bezpečné uložení tranzitních kovů je nezbytné k tomu, aby mohl být včas odstraněn jak peroxid vodíku, tak i superoxid, a aby nedocházelo ke vzniku hydroxylového radikálu¹².

¹¹ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 46-47

¹² ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 26-27

B) VZNIK VOLNÝCH RADIKÁLŮ

Velké množství volných radikálů vzniká v organismu v průběhu metabolismu, ale mohou se do organismu dostávat také z okolního prostředí. Podle tohoto hlediska rozdělujeme příčiny vzniku volných radikálů na endogenní a exogenní ¹³.

Tab. 2 Některé zdroje volných radikálů ¹⁴

Endogenní zdroje tvorby VR	Příklad
vznik kyseliny močové (reakce katalyzovaná xanthinoxidázou)	při úrazech, nekrózách, pooperačních stavech
rozpad fagocytů a makrofágů	záněty, popáleniny, septický stav
vznik methemoglobinu	
syntéza prostaglandinů	
zvýšený metabolismus estrogenů	
autooxidace thiolů	
hyperglykémie	
reperfuze po předchozí ischemii	infarkt myokardu, cévní mozková příhoda, svalový výkon "na kyslíkový dluh"
Exogenní zdroje tvorby VR	Příklad
ionizující záření	γ-záření, X-paprsky
UV-světlo, modré světlo	léčba hyperbilirubinémie u novorozenců
vysoký obsah škodlivin ve vzduchu	tepelné elektrárny, průmysl, doprava
kouření	
intoxikace	polychlorované bifenyly, tetrachlormethan, alkohol - VR vznikají při metabolismu těchto látek
potrava	VR v ní vznikají při tepelné úpravě, drcení, vlivem světla

Na základě současných znalostí můžeme říci, že každá aerobní buňka je schopná produkovat volné radikály. Reakce, kterými dochází ke vzniku volných

¹³ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 12

¹⁴ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 12

radikálů v organismu, můžeme rozdělit do pěti skupin. Jsou to autooxidace, fotooxidace, oxidoreduktázy nebo elektronové transportní řetězce, indukovatelné enzymy ve spojení s xenobiotiky a léky a nakonec dekompartmentalizace.

1. Autooxidace

Redukované metabolity s odpovídajícím redoxním potenciálem mohou podléhat autooxidaci za katalytického působení iontů přechodných prvků, přičemž se může tvořit superoxidový radikál. Takto reagují například trioly, flaviny, pteriny, chinony, katecholaminy či cholesterol.

2. Fotooxidace

Některá buněčná barviva katalyzují fotodynamické reakce typu I (reakce, která má za následek separaci nábojů v molekule excitovaného pigmentu a jejím výsledkem je tvorba superoxidu) a II (reakce, při které dochází k přenosu excitační energie z pigmentu na kyslík, přičemž vzniká singletový kyslík). Fotodynamické reakce typu I a II následně iniciují další řetězové reakce.

3. Oxidoreduktázy nebo elektronové transportní řetězce

Mitochondriální nebo fotosyntetické elektronové transportní řetězce, některé mikrozomové funkce, NAD(P)H oxidázy a různé redoxní enzymy, které mají dle klasifikace enzymů (EC nomenklatura) na první pozici číslo 1 a na třetí pozici číslo 3, mohou produkovat superoxid nebo peroxid vodíku. Oxidoreduktázy s číslem 1.1.3 až 1.10.3 katalyzují enzymové reakce, kde kyslík vystupuje jako akceptor elektronů a různé skupiny atomů jsou jejich donorem. Jedná se o velkou skupinu enzymů, hlavně ve třídě EC 1.1.3, jako např. oxidáza s CH-OH donory (např. glykoxidáza, glukosoxidáza a další). Několik enzymů z 1. třídy, ale jiných podtříd, také může produkovat superoxid, jako např. aldehydoxidáza (EC 1.2.3.1) a xantioxidáza (EC 1.2.3.2). Výše uvedenými reakcemi se tvoří přímo superoxid a peroxid vodíku, které se označují jako primární produkty. Ze superoxidu nebo peroxidu vodíku vznikají koncové produkty těchto enzymových reakcí, organické peroxidy a epoxidy. Všechny ostatní reaktivní produkty kyslíku, jako jsou peroxylové, alkoxylové a hydroxylové radikály se označují jako sekundární produkty. Zatím není známa enzymová reakce, která by přímo a cíleně

katalyzovala vznik hydroxylového radikálu. Ten tedy vzniká v organismu většinou nekontrolovanými reakcemi.

4. Indukovatelné enzymy ve spojení s xenobiotiky a léky

Některé systémy *cytochromu-P₄₅₀* jsou indukovatelné určitými substráty, důsledkem čehož je tvorba „nenaprogramovaných bočních produktů“. Příkladem je tvorba reaktivních metabolitů kyslíku *cytochromem-P₄₅₀* indukovaná ethanolom, kdy se kromě tvorby superoxidu a peroxidu vodíku dokazuje i produkce $\cdot\text{OH}$.

Indukovatelnými enzymovými systémy může být produkován také singletový kyslík, např. při *cytochromem-P₄₅₀* – Fe(III) katalyzovaném štěpení hydroperoxidů.

5. Dekompartmentalizace

Po částečné destrukci buněk se vyskytují „nespecifické“ oxidace, ke kterým dochází, protože se střetly látky a enzymy, které jsou za fyziologických podmínek vždy oddělené. Tyto reakce zapříčiňují ztrátu funkčnosti buněk a jejich nekrózu, po které následuje buněčná smrt ¹⁵.

C) ÚČINKY VOLNÝCH RADIKÁLŮ

Volné radikály a reaktivní metabolity kyslíku mají na jedné straně nezastupitelný význam pro zachování správných biologických funkcí mnoha systémů a pochodů v organismu, ale na druhé straně mohou vážně poškodit mnohé důležité molekuly a tím zapříčinit nefunkčnost buněk, nebo dokonce i smrt organismu. Volné radikály mají tedy na organismus pozitivní i negativní efekt. Tvorba a fyziologický účinek volných radikálů musí být proto pod neustálou a přísnou kontrolou různých obranných, tzv. antioxidačních systémů, aby se aktivita VR neobrátila proti vlastním molekulám ¹⁶. V následující kapitole přiblížím

¹⁵ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 56-59

¹⁶ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 77

jak pozitivní, tak také negativní účinky volných radikálů na organismus a jeho jednotlivé komponenty.

1. Pozitivní účinky volných radikálů

Mezi biologické mechanismy, ve kterých mají volné radikály významnou a nezastupitelnou úlohu, patří proces fagocytózy (k zabíjení fagocytovaných mikroorganismů je využívána kyselina chlorná, která vzniká z chloridových anionů a peroxidu vodíku působením myeloperoxidázy), úspěšné oplodnění vajíčka spermií (peroxidační reakce) či příznivý vasodilatační účinek oxidu dusnatého. Na přítomnosti VR dále závisí některé biochemické reakce probíhající v organismu, jako např. hydroxylační (biosyntéza cholesterolu či žlučových kyselin, detoxikace některých xenobiotik), karboxylační (syntéza protrombinu a dalších koagulačních faktorů) a některé oxidační reakce (oxidace jodidu na elementární jód, který je nezbytný pro štítnou žlázu), nebo reakce vzniku deoxyribonukleotidů. Jiné volné radikály působí jako signální molekuly (vznik peroxidu vodíku v buňkách orgánu citlivého na změny parciálního tlaku kyslíku, který je umístěn v karotickém sinu). Superoxid a jiné VR mají také funkci regulační. Jsou v malém množství produkovány v leukocytech a ovlivňují produkci transkripčních faktorů, např. transkripčního faktoru NF- κ B, který kontroluje imunitní odpověď či proliferaci buněk.

Volné radikály se také začínají cíleně využívat v terapii některých onemocnění. Singletový kyslík se vytváří tzv. fotodynamickým efektem, který je základem fotodynamické terapie při léčbě např. genitálních vředů (způsobených virem *Herpes simplex*) či novorozenecké žloutenky. Také při diagnostice nádorových onemocnění (hlavně kůže, ale také plic) se využívá vzniku radikálů. Po injikování derivátů porfyrinu (HPD – hematoporfyrin derivatives) a ozáření se fluorescenční metabolity VR dostávají přednostně do nádorového tkaniva. Pozorováním fluorescence je tedy možné určit místo výskytu nádoru. Zároveň mohou být nádorové buňky narušeny vytvořenými metabolity singletového kyslíku a hydroxylového radikálu^{17, 18}.

¹⁷ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 19-21

¹⁸ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 77-84

2. Negativní účinky volných radikálů

Pokud nedochází k úplné a přesné kontrole vzniku a působení volných radikálů, mohou tyto „nekontrolované“ radikály začít přímo poškozovat tkáně organismu nebo může být vyvolána odpověď na buněčné úrovni¹⁹. Důsledek negativního působení volných radikálů a reaktivních metabolitů kyslíku nebo dusíku se označuje jako oxidační stres. Volné radikály mohou napadnout prakticky kteroukoli molekulu v organismu a způsobit tak její oxidační poškození. K nejzávažnějším patří poškození fosfolipidů buněčných membrán, které vede k porušení životně důležitých membránových dějů či dokonce ke smrti buňky, dále poškození nukleových kyselin (mutageneze, karcinogeneze, smrt buňky), proteinů (inaktivace enzymů a jiných proteinů s různým biologickým významem) a cukerných složek tkání²⁰.

2.1. Poškození lipidů

Volné radikály katalyzují oxidaci lipidů, čímž dochází ke spuštění řetězové peroxidační reakce, která postihuje membránové mastné kyseliny. Nejčastěji jsou napadány kyseliny s větším počtem dvojných vazeb (polyenové mastné kyseliny, např. kyselina arachidonová nebo dokosaheptaenová). Z arachidonové kyseliny vznikají peroxidací prostaglandiny a leukotrieny. Produkty lipidické peroxidace jsou hydroxyperoxy a nenasycené aldehydy (např. malondialdehyd – MDA, který patří v praxi k nejběžněji stanovovaným ukazatelům lipoperoxidace). Obě tyto skupiny látek jsou cytotoxické, inhibují syntézu proteinů a řadu enzymů (např. ATPázu), zvyšují membránovou permeabilitu a prostup pro vápenaté ionty a tím prohlubují poškození volnými radikály. Lipidickou peroxidaci výrazně zesiluje přítomnost kovů železa a mědi. Naproti tomu nasycené či monoenové mastné kyseliny (např. kyselina olejová) jsou vůči oxidačnímu poškození volnými radikály poměrně rezistentní.

¹⁹ KOTTOVÁ, M., POUROVÁ, J., VOPRŠALOVÁ, M. Oxidační stres a jeho role v respiračních onemocněních. Česká a slovenská farmacie, 2007, 56, č.5, str. 215-219

²⁰ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 13

2.2. Poškození DNA

Deoxyribonukleová kyselina je na působení volných radikálů velmi citlivá. Dochází u ní (zvláště působením hydroxylového radikálu) ke zlomům, poškození nukleových bází i cukerné složky. Tyto změny mohou být příčinou zániku buněk nebo mohou dát podnět k autoimunitnímu procesu, či se projevit karcinogenním nebo mutagenním účinkem.

2.3. Poškození bílkovin

Většina bílkovin v buňkách má katalytickou (enzymovou) funkci. I poměrně malé změny v konfiguraci nebo v aktivních skupinách bílkovin tedy mohou vést k vážnému poškození buněčných funkcí, které může skončit až smrtí buňky. Volné radikály způsobují hydrolýzu peptidických vazeb a fragmentaci bílkovin. Dochází také k tvorbě tzv. křížových vazeb a agregaci proteinů. Vytváří se intramolekulární disulfidické vazby. Toto vše má za následek zvýšení vnímavosti proteinů k proteolýze a vede k oxidaci aminokyselin (např. cysteinu). Vznikají peroxylové radikály či hydroperoxydy, v konečné fázi se mohou tvořit reaktivní aldehydy a uvolňovat další radikály. Oxidace citlivých aminokyselin v bílkovinách však nemusí být ireversibilní. Zvláště glutathion může redukovat oxidované thiolové skupiny a navracet tak bílkovinám jejich fyziologickou funkci.

2.4. Poškození cukerné složky tkání

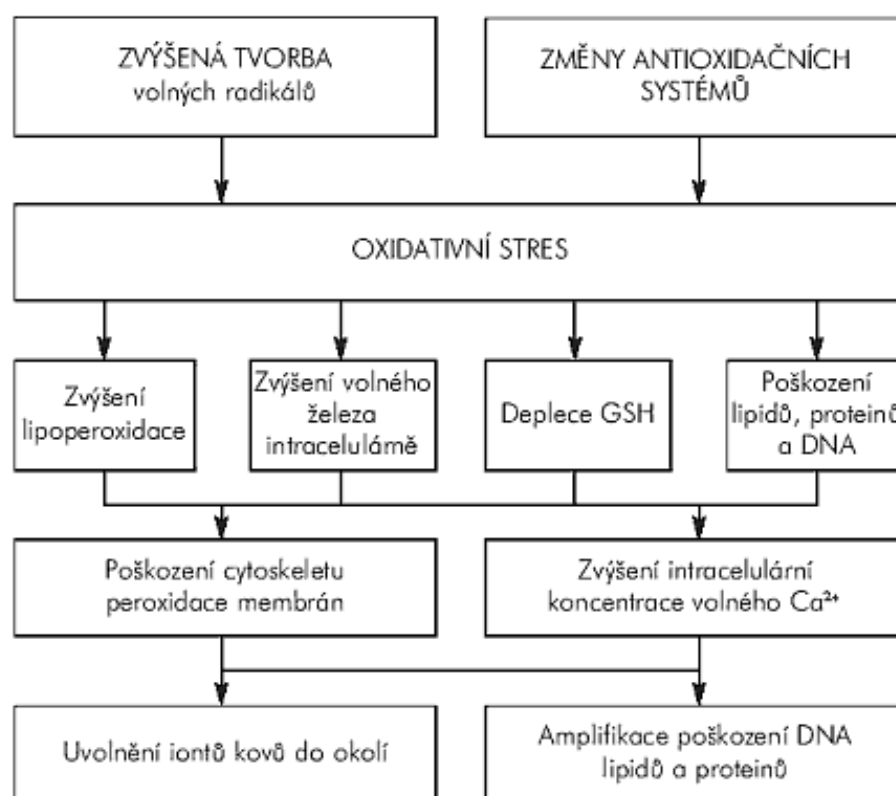
Cukerné složky tkání mají až stonásobně menší citlivost k poškození volnými radikály než bílkoviny. S radikály však reaguje glukóza a desoxycukry. U složitějších polymerů, např. kyseliny hyaluronové, dochází k fragmentaci a následnému poklesu její viskozity.

2.5. Nepřímé působení volných radikálů na tkáň

V mnoha případech se stávají reaktivní volné radikály vysoce toxickými zprostředkovaně, zásahem do jiných procesů. Peroxidace lipidů může vyvolat poškození membrán, což může vést k uvolnění enzymů (např. fosfolipázy A₂, lyzozomálních enzymů). Uvolněné enzymy mohou vycestovat do jiných buněčných tkáňových oddílů, kde způsobí „dálkový“ typ poškození. Volné radikály mohou také způsobit poškození různých inhibitorů, jejichž odstraněním

se odbrzdí účinek dalších faktorů, čímž dojde ke spuštění řady nežádoucích reakcí. Tím dochází k toxickým důsledkům pro celý organismus. Volné radikály mohou odstartovat např. kaskádu kyseliny arachidonové se vznikem zánětu, trombózy apod. Mohou také tímto způsobem aktivovat složky komplementového systému a vést k imunitnímu poškození (např. zvýšení permeability cév, zvýšení fagocytózy, buněčné chemotaxi, cytolýze, spasmu a trombóze cév) ^{21, 22}.

Obr. 1 Vztahy mezi oxidačním stresem a poškozením buněk ²³



²¹ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 13

²² SKLENOVSKÝ, A. Pokroky v patologické fyziologii II. Význam volných kyslíkových radikálů pro etiopatogenezu chorob. Rektorát Univerzity Palackého v Olomouci, 1992, str. 12-13

²³ KAMENÍKOVÁ, L. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Solutio, 2000/2001, [cit.2.2.2009]. Dostupné na World Wide Web: www.medon-solutio.cz

II. ANTIOXIDAČNÍ OCHRANNÝ SYSTÉM ORGANISMU

Vzhledem k tomu, že volné radikály v organismu vznikají neustále v průběhu normálního metabolismu, musí být ve tkáních přítomna i dostatečná obrana proti jejich nadměrné tvorbě a oxidačnímu stresu, ke kterému jejich působením dochází. Antioxidační obrana organismu představuje velmi složitý soubor mechanismů, které navzájem spolupracují, doplňují se a mnohdy se i potencují. Navíc musí být v neustále udržované rovnováze s prooxidačními látkami, tedy s produkcí volných radikálů. Je proto oprávněné hovořit o komplexním systému antioxidační ochrany. Jednotlivé součásti tohoto systému jsou velmi různorodé, s odlišným mechanismem i místem účinku a vzniku ²⁴.

A) ROZDĚLENÍ ANTIOXIDANTŮ (AO)

Je velmi obtížné najít vhodné kritérium pro třídění antioxidantů, protože se jedná o velmi různorodou skupinu látek. Obecně můžeme ochranné mechanismy rozdělit do tří skupin podle způsobu ovlivnění tvorby VR. Nejbezpečnějším způsobem je bránit se vzniku nadměrného množství reaktivních forem kyslíku a dusíku (**primární antioxidanty** - např. inhibitory NADPH-oxidázy či xantinoxidázy, chelatační látky). Pokud už však volné radikály vznikly, dochází k aktivaci systémů, které je vychytávají (scavengers) a likvidují (**sekundární antioxidanty** – např. enzym superoxiddismutáza nebo látky s redukčním účinkem). Poslední možností z hlediska tohoto rozdělení jsou reparační systémy, které z organismu odstraňují molekuly již poškozené oxidačním stresem (**terciární antioxidanty** – např. reparační endonukleázy pro opravu oxidačně poškozené DNA či fosfolipáza A₂, která odstraňuje poškozené vyšší karboxylové kyseliny). Je však nutné si uvědomit, že některé antioxidanty mohou působit proti volným radikálům i více než jedním výše popsaným mechanismem. Například kyselina močová či polyfenolické flavonoidy odstraňují již vzniklé volné radikály

²⁴ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 31

svými redukčními účinky, ale zároveň mají schopnost vázat přechodné kovy do stabilních chelátů, čímž zabraňují vzniku volných radikálů ²⁵.

Kromě tohoto základního rozdělení je možné antioxidanty třídit podle dalších hledisek:

1. Podle původu

- endogenní (vznikají v organismu)
- exogenní (do organismu vstupují z vnějšího prostředí), které můžeme dále rozdělit na přirozené (např. vitamíny) a umělé (např. mnohé léky a uměle modifikované přirozené antioxidanty).

2. Podle rozpustnosti

- hydrofilní (rozpustné ve vodě) – rychle se do organismu dostávají, ale nepronikají přes buněčnou membránu do buněk ani do centrální nervové soustavy (též označení cytoplazmové AO); např. superoxiddismutáza, kataláza, glutathion, albumin, transferin, kyselina askorbová, bilirubin aj.
- hydrofobní (lipofilní, rozpustné v tucích) - na místo účinku se dostávají pomaleji, působí však v lipoproteinech a membránách (též označení membránové AO); např. vitamin E (α -tokoferol), karotenoidy (β -karoten, lykopen), ubiquinol (koenzym Q₁₀), estrogeny aj.
- amfifilní – tyto antioxidanty spojují vlastnosti obou předchozích skupin; např. kyselina lipoová, melatonin, polyfenolické bioflavonoidy aj.

3. Podle lokalizace v buňce či mimo ni

- extracelulární
- intracelulární – mají rozhodující význam pro ochranu před volnými radikály.

4. Podle velikosti molekuly

- vysokomolekulární (bílkoviny), které můžeme dále rozdělit na:
 - ✓enzymové
 - ✓neenzymové
- nízkomolekulární.

²⁵ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 173-174

5. Podle mechanismu účinku

- katalyzátory – enzymy a některé sloučeniny kovů, které enzymy napodobují svým mechanismem účinku; při reakcích se nespotřebovávají
- chelatační látky – váží přechodné kovy (Fe, Cu, Ni, Mn aj.) a tím brání jejich zapojení do Fentonovy reakce; stejným způsobem mohou působit i některé bílkoviny (např. laktoferin, transferin, haptoglobin aj.)
- inhibitory enzymů
- ostatní.

6. Podle typu volného radikálu, na který působí – AO likvidující:

- superoxid – superoxiddismutáza
- hydroxylový radikál – albumin, cholesterol, manitol, dopamin, probucol
- singletový kyslík – histidin, vitamin C, vitamin E, β -karoten, tryptofan
- peroxid vodíku – glutathionperoxidáza, kataláza
- oxid dusnatý – aminoguanidin, N-methyl-L-arginin
- kyselinu chlornou – sulfasalazin, histidin, methionin, kyselina 6-aminosalicylová.

Na základě znalosti vlastností AO (rozpuštnost ve vodě či v tucích, průnik přes membrány, způsob účinku, doba existence) je možné přirozené antioxidanty chemicky či jinak modifikovat a tím získat další požadované vlastnosti. Například zabudováním vedlejšího hydrofobního řetězce do struktury vitaminu C vznikne látka rozpustná v tucích, která bude schopná lepšího průniku přes buněčnou membránu. Mimo ovlivnění rozpustnosti můžeme zpomalit eliminaci či snížit dostupnost antioxidantů pro imunokompetentní buňky. U enzymů superoxiddismutázy (SOD) či katalázy (KAT), které mají velmi krátký biologický poločas, je možné dosáhnout požadovaného prodloužení eliminace a snížení dostupnosti pro imunokompetentní buňky jejich navázáním na makromolekulární nosič (albumin, polyvinylpyrolidon) nebo uzavřením do liposomu²⁶. Mezi další nevýhody klasických antioxidantů patří jejich neschopnost průniku do mitochondrií, které jsou místem vzniku značné části volných radikálů. Výsledky současného výzkumu však nabízí možnost připojení antioxidantů (např. vitaminu

²⁶ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 31-36

E či koenzymu Q₁₀) na kationty pronikající membránou (membrane-penetrating cations), které jsou vysoce lipofilní, a proto mohou pronikat mitochondriální membránou bez nutné vazby na receptor. Příkladem kationtu pronikajícího membránou může být triphenylphosphonium (TPP) ²⁷.

Tab. 3 Příklady antioxidantů a jejich hlavního detoxikačního účinku ²⁸

ANTIOXIDANTY	DETOXIKAČNÍ ÚČINEK NA
Enzymové AO	
Cytochrómxidáza	95-99 % O ₂ v buňkách
Superoxiddismutáza	superoxid
Kataláza	peroxid vodíku
Glutathionperoxidáza	peroxid vodíku
Peroxidázy	peroxydy
Neenzymové vysokomolekulární AO	
Ceruloplazmin	superoxid, oxiduje Fe ²⁺ , inaktivuje Cu ²⁺
Albumin	hydroperoxydy
Feritin	chelátor Fe ³⁺
Nízkomolekulární hydrofilní AO	
Glutathion	$\cdot\text{OH}$ a $^1\text{O}_2$
Kyselina askorbová	O ₂ ⁻ , $\cdot\text{OH}$, $^1\text{O}_2$, organické radikály
Kyselina močová	O ₂ ⁻ , $\cdot\text{OH}$, $^1\text{O}_2$, chelátor iontů kovů
Thioly (cystein)	O ₂ ⁻ , $^1\text{O}_2$
Bilirubin (vázaný na proteiny)	peroxylový radikál
Nízkomolekulární lipofilní AO	
Tokoferoly	$\cdot\text{OH}$, ROO \cdot
Karotenoidy	$\cdot\text{OH}$, $^1\text{O}_2$
Ubichinol	peroxylový radikál

Je nutné si uvědomit, že neexistuje žádný antioxidant, který by byl schopen odstraňovat všechny volné radikály (např. superoxid je likvidován

²⁷ MURPHY, M., SMITH R. Targeting Antioxidants to Mitochondria by Conjugation to Lipophilic Cations. Annual Review of Pharmacology and Toxikology, 2007, Vol. 47, str. 629-656

²⁸ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 175

superoxiddismutázou, která je však naprosto neúčinná vůči volnému hydroxylovému radikálu)²⁹.

B) CELKOVÁ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITA

Antioxidanty nejsou v organismu zastoupeny systémem „všechny všude“. Jejich distribuce je odlišná v intracelulárním a extracelulárním prostoru. Obsah jednotlivých antioxidantů je v různých orgánech, tkáních i u různých živočišných druhů rozdílný.

Poměrně často se stanovuje tzv. celková antioxidační kapacita (AOC) plazmy, resp. extracelulární tekutiny, která představuje souhrn všech látek s antioxidačním účinkem v této tekutině obsažených. V dnešní době se k tomuto účelu nejčastěji používá metoda „Trolox antioxidant status“ firmy Randox Laboratories, která umožňuje dobrou automatizaci a standardizaci. Antioxidační kapacita se u této metody obvykle vyjadřuje jako poměr antioxidačního účinku vzorku k 1,0 mmol/l roztoku Troloxu (ve vodě rozpustný vitamin E).

Tab. 4 Koncentrace hlavních antioxidantů plazmy a jejich podíl na celkové antioxidační kapacitě (Randox)

ANTIOXIDANT	KONCENTRACE ($\mu\text{mol/l}$)	PRŮMĚRNÝ PODÍL NA CELKOVÉ AOC (%)
Hydrofilní		
Albumin	35 - 48 (g/l)	43
Kyselina močová	140 - 420	33
Kyselina askorbová	30 - 150	9
Bilirubin	5 - 22	2
Glutathion	1 - 2	< 2
Lipofilní		
α -tokoferol	15 - 40	3
γ -tokoferol	3 - 5	< 2
β -karoten	0,3 - 1,6	< 2
Lykopen	0,5 - 1,0	< 2
Ubichinol (koenzym Q 10)	0,4 - 1,0	< 2

²⁹ HLÚBIK, P., SKŘÍTECKÁ, H., FAJFKOVÁ, J. Antioxidanty v klinické praxi. Praktické lékařství, 2006, č. 6, str. 254-256

Antioxidační kapacita plazmy se mění dle zdravotního stavu pacienta. Dalo by se předpokládat, že u nemocných s vysokou produkcí volných radikálů bude tato kapacita nízká jako důkaz spotřeby antioxidantů při zneškodňování volných radikálů. Avšak opak je pravdou. U mnoha chorob, při nichž nepochybně dochází ke zvýšené produkci volných radikálů, je antioxidační kapacita plazmy také významně zvýšena. Tento fakt lze vysvětlit celkovou reakcí organismu na místní produkci volných radikálů nebo tvorbou takových antioxidantů, které nejsou schopny vznikající druh volných radikálů likvidovat. Další příčinou může být vyplavení antioxidantů z jater a tukových depot, což způsobí vzrůst antioxidační kapacity plazmy, aniž by se tato zvýšila v buňkách. Podle shora uvedených faktů můžeme soudit, že zvýšení antioxidační kapacity plazmy je tedy spíše nepříznivým ukazatelem, který vypovídá o dlouhodobé zátěži organismu volnými radikály a jejich nedostatečném odstraňování. Naopak pokles antioxidační kapacity může být znamením spotřeby antioxidantů, a tedy likvidace volných radikálů ³⁰.

Antioxidační kapacita plazmy je rozdílná také vzhledem k věku. U dospělých a se zvyšujícím se věkem stoupá podíl urátů (25-30%), zatímco u dětí převládá kyselina askorbová ³¹.

C) PŘÍKLADY JEDNOTLIVÝCH ANTIOXIDANTŮ

Jak již bylo zmíněno, existuje velké množství antioxidantů. Jejich význam pro organismus je nesterýný a v některých případech stále ne zcela objasněný. Rovněž vzájemné vztahy mezi jednotlivými antioxidanty nejsou úplně vysvětleny. V následujícím textu proto uvedu pouze ty AO, které se vyskytují v organismu v největší koncentraci a jejichž význam a místo v antioxidační ochraně jsou dobře známy.

³⁰ RACEK J., Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén 2003, str. 37-39

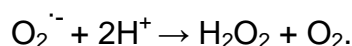
³¹ ĎURAČKOVÁ Z., Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press 1998, str. 176

1. Enzymové antioxidanty

Enzymové antioxidanty se mohou vyskytovat jak v intracelulárním, tak i v extracelulárním prostoru, avšak zde mají pouze zanedbatelný význam. V malém množství se v extracelulárním prostoru vyskytuje například extracelulární superoxiddismutáza (EC-SOD), malé množství GSH-závislé peroxidázové aktivity a pravděpodobně také velmi malé množství katalázy. V intracelulárním prostoru však mají enzymové antioxidanty velmi významné postavení.

1.1. Superoxiddismutáza

Superoxiddismutáza (SOD), superoxid: superoxid oxidoreduktáza, EC 1.15.1.1, je až na zanedbatelné výjimky obsažena v každé buňce všech aerobních organismů. Je tedy jedním ze základních antioxidačních enzymů. Katalyzuje dismutaci superoxidového radikálu na molekulový kyslík a peroxid vodíku, čímž zabraňuje přeměně superoxidového radikálu na další velmi reaktivní produkty, ke kterým patří hlavně hydroxylový radikál, dále také peroxid vodíku, peroxynitrit či kyselina chlorná. Z těchto produktů je nejnebezpečnější hydroxylový radikál, který má tak krátký biologický poločas, že nemůže existovat účinný mechanismus k jeho odstranění. Proto se organismus orientoval na prevenci vzniku hydroxylového radikálu s cílem odstranit přebytečný superoxid. Děje se tak právě v reakci katalyzované superoxiddismutázou:

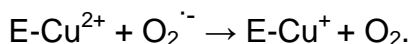


Vznikající peroxid vodíku musí být samozřejmě také účinně odstraňován. K jeho eliminaci dochází v navazujících reakcích katalyzovaných katalázou a peroxidázami.

Rozeznáváme tři druhy superoxiddismutázy lišící se od sebe kofaktorem, kterým je vždy atom kovu, mající rozhodující úlohu v katalytickém účinku daného enzymu. Jedná se o Mn^{2+} SOD, Fe^{2+} SOD a $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ SOD.

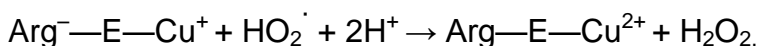
- **$\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ SOD (SOD 1).** Tento enzym se skládá ze dvou identických podjednotek, z nichž každá má molekulovou hmotnost 16kDa a v každé se nachází jeden atom mědi a jeden atom zinku. Měď plní funkci redoxního centra, zinek má strukturní úlohu a katalýzy se neúčastní. Obě podjednotky SOD 1 jsou aktivní a přestože se nacházejí relativně daleko

od sebe, v katalytické aktivitě závisí jedna na druhé. Jedná se o velmi stabilní enzym, který se vyskytuje v cytosolu a v mezimembránovém prostoru mitochondrií. Gen pro SOD 1 se nachází na 21. chromozomu. V reakčním mechanismu je Cu^{2+} v molekule enzymu redukována první molekulou superoxidu na Cu^+ :



Další molekula superoxidu je poté v protonizované formě (proton získá z argininu v blízkosti aktivního centra), jakožto hydroperoxylový radikál, schopna znovu oxidovat Cu^+ , a tak regenerovat původní formu enzymu.

V této druhé reakci se tvoří peroxid vodíku:



Podobný reakční mechanismus byl zjištěn také u Mn^{2+} SOD a Fe^{2+} SOD.

$\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ SOD se nachází u vyšších eukaryotických organismů, a to jak u hub a rostlin, tak u živočichů. U člověka ji můžeme najít například v hepatocytech, mozku a erytrocytech.

- **Mn^{2+} SOD (SOD 2) a Fe^{2+} SOD.** Zatímco Fe^{2+} SOD se v organismech vyskytuje pouze jako dimer, Mn^{2+} SOD existuje také jako tetramer. V aktivním centru obsahují atom Mn(III) a/nebo Fe(III) . Fe^{2+} SOD se totiž může vyskytovat jen s jedním atomem kovu na obou podjednotkách, nebo jako hybrid. V tomto případě obsahuje jedna podjednotka enzymu atom Mn(III) a druhá atom Fe(III) . Množství atomů železa, resp. manganu, v molekule enzymu kolísá u jednotlivých organismů mezi jedním až dvěma. Je však pravděpodobné, že každá podjednotka váže jeden kovový atom. Menší počet, který byl zjištěn některými autory, je zřejmě způsoben následkem ztrát při izolaci enzymu. Mn^{2+} SOD je metaloprotein růžové barvy, u lidí se nachází převážně v matrix mitochondrií buněk různých tkání, jako jsou například játra, mozek, ledviny, srdce, kosterní svaly, lymfatické uzliny, atd. Gen pro Mn^{2+} SOD se nachází v jadrové DNA na chromozómu 6q25. Prokaryotická Fe^{2+} SOD nebyla nalezena v živočišných buňkách, ale v chloroplastech některých rostlin se tento enzym již podařilo dokázat. Katalytická schopnost Fe^{2+} SOD je v porovnání s $\text{Cu}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ SOD nebo Mn^{2+} SOD menší. Všechna prokaryota obsahují Mn^{2+} SOD a/nebo Fe^{2+} SOD. Najdeme je také v prokaryotických

řasách a protozoích. Oba tyto enzymy patří vývojově i strukturně ke stejné rodině superoxiddismutáz.

V extracelulárních tekutinách a extracelulárním prostoru se nachází také izoenzym SOD, kterým je **extracelulární superoxiddismutáza EC-SOD**. Tento enzym už byl dokázán i v některých tkáních, ale jeho přesná lokalizace ani syntéza není zatím objasněna. EC-SOD je slabě hydrofobní glykoprotein, který se vyskytuje jako tetramer s molekulovou hmotností 135kDa. Každá jeho podjednotka obsahuje jeden atom Cu(II) a jeden atom Zn(II). Nachází se ve větším množství v plicích a štítné žláze. Jeho přesný biologický význam není znám. Předpokládá se, že EC-SOD je významný modulátor aktivity oxidu dusnatého a reaktivních metabolitů odvozených od NO[•], které mají vliv na relaxaci hladkého svalstva.

Oxidační stres, doprovázený tvorbou superoxidu, vyvolává indukci syntézy SOD u mikroorganismů, vyšších živočichů i rostlin. Přitom záleží na subcelulární lokalizaci produkce volných radikálů, který typ superoxiddismutázy bude reagovat zvýšenou syntézou.

1.2. Kataláza

Kataláza (KAT), H₂O₂: H₂O₂ oxidorekutasa, EC 1.11.1.6, se vyskytuje ve většině aerobních organismů, kromě některých bakterií a řas. U živočichů ji nalezneme ve všech důležitých orgánech, hlavně v mitochondriích a peroxysomech hepatocytů a v cytoplazmě erytrocytů, avšak v mozku, srdci či kosterních svalech se vyskytuje pouze v malém množství. V buňkách živočichů a rostlin se kataláza váže na intracelulární struktury – peroxisomy. U některých živočichů (např. morče) však byla v játrech dokázána i neperoxizómová kataláza. Mitochondrie, chloroplasty a endoplazmatické retikulum obsahují velmi málo katalázy.

Tento tetramerní hemoprotein má molekulovou hmotnost 240kDa, jeho podjednotky obsahují ve svém aktivním centru hem s koordinovaným atomem Fe(III). Na každou podjednotku se dále váže jedna molekula NADPH, která pomáhá celou molekulu enzymu stabilizovat.

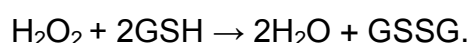
Význam katalázy pro organismus spočívá v ochraně buněk před toxickým vlivem vyšších koncentrací peroxidu vodíku a navazuje tak vlastně (společně s peroxidázami) na činnost superoxiddismutázy. Kataláza zajišťuje rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Působí přitom na peroxid vodíku ve vysokých koncentracích. Tím se liší od peroxidáz, které působí i na nízké koncentrace H_2O_2 (popř. jiných hydroperoxidů) a u kterých se kromě peroxidu vodíku účastní reakce ještě další kosubstrát. Avšak v případě, že vazebné místo enzymu pro NADPH je obsazeno, přeměňuje kataláza i peroxid vodíku v nízkých koncentracích.

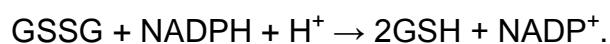
Během oxidačního stresu se vytváří větší množství peroxidu vodíku, který indukuje biosyntézu nových molekul katalázy, což ovlivňuje rychlost rozkladu H_2O_2 . Kataláza je tedy indukovatelný enzym.

1.3. Glutathionperoxidáza

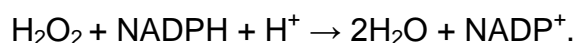
Glutathionperoxidáza (GSHPx, GPx), glutathion: peroxid vodíku oxidoreduktasa, EC 1.11.1.9, se nachází v živočišných buňkách, ale nevyskytuje se všeobecně v rostlinách anebo bakteriích. Antioxidační význam glutathionperoxidázy spočívá v eliminaci peroxidu vodíku (jako potenciálního substrátu pro Fentonovu reakci) redukcí. Současně dochází v reakci k oxidaci glutathionu, obsahujícího cystein:



Aby tento enzym mohl plynule zajišťovat likvidaci peroxidu vodíku, je nutné regenerovat glutathion v redukované formě (GSH). K tomuto účelu slouží enzym glutathionreduktáza (GR, EC 1.6.4.2), který využívá k redukci glutathionu pyridinový koenzym NADPH:



Výsledkem obou těchto reakcí je tedy rozštěpení peroxidu a současná oxidace NADPH:



Existují tři formy tohoto enzymu, které se odlišují jak stavbou molekuly, tak i místem výskytu v různých oddílech buňky. První dvě formy se vyskytují v cytoplazmě buněk (cGSHPx) a v krevní plazmě - tedy v extracelulární tekutině (eGSHPx). Jedná se o bílkoviny o molekulové hmotnosti 22KDa, které se skládají

ze čtyř podjednotek a které ve svém aktivním centru obsahují speciální aminokyselinu – selenocystein (selenový analog cysteinu). Pokud je v organismu značný nedostatek selenu, dojde k poklesu aktivity GSHPx. U pacientů s výraznou deplecí selenu existuje pozitivní korelace mezi hladinou selenu v séru a aktivitou GSHPx v erytrocytech.

Třetí typ GSHPx se od předchozích dvou typů značně odlišuje. Tato glutathionperoxidáza je vázaná v membráně a odtud má i svůj název – fosfolipidová glutathionperoxidáza (pGSHPx). Tento enzym má molekulovou hmotnost 18kDa a je monomerem. Redukuje nejen peroxid vodíku, ale na rozdíl od předchozích dvou typů GSHPx také lipidové hydroperoxidy, které přeměňuje na příslušné hydroxylové deriváty lipidů bez uvolnění mastných kyselin z těchto lipidů. Přerušuje tak lipoperoxidaci (řetězová reakce poškození lipidů volnými radikály), brání vzniku malondialdehydu, 4-hydroxynonenalu a dalších toxicky a mutageně působících aldehydů, čímž chrání membránové fosfolipidy.

Dalším významným nástrojem v ochraně buněčných membrán před peroxidací lipidů je rodina cytosolových enzymů zvaných **glutathiontransferázy** (GST), EC 2.5.8.18. I když je v molekule těchto enzymů přítomen atom selenu s oxidačním číslem (II), nezúčastňuje se katalytického mechanismu, a proto jsou glutathiontransferázy na selenu nezávislé.

Tyto enzymy katalyzují konjugační reakce, při kterých je sulfhydrylová skupina GSH navázána na elektrofilní organickou látku. Jejich substrátem je 4-hydroxynonenal, který je po konjugaci s GSH z těla vyloučen. Tímto způsobem jsou detoxikovány některá xenobiotika (látky těla cizí). Glutathion je tedy spotřebováván nejen při ochranných redukčních reakcích, ale také při odstraňování produktů peroxidace.

1.4. Paraoxonáza

Paraoxonáza (PON), arylalkylfosfatasa, EC 3.1.8.1, patří do skupiny esteraz schopných hydrolyzovat organofosfáty (látky používané jako insekticidy nebo nervově paralytické jedy), tedy do esteraz typu A. Název PON je odvozen od paraoxonu, který je substrátem tohoto enzymu. Paraoxonáza je vytvářena hlavně v játrech, dále také v plicích, mozku, pankreatu a placentě. V plazmě je poměrně silně vázána na lipoprotein o vysoké hustotě (HDL). Gen pro

paraoxonázu je umístěn na 7. chromozomu. PON je bílkovina o molekulové hmotnosti 43 – 45kDa, jejíž aktivní centrum obsahuje sulfhydrylové skupiny a vápenaté ionty. Přesný mechanismus jejího účinku zatím není zcela znám, ale předpokládá se, že hydrolyzuje lipidové peroxidy, resp. hydroperoxidy fosfolipidů a esterů cholesterolu, které vznikají při oxidaci LDL. Tímto mechanismem brání PON rozvoji aterosklerózy^{32, 33}.

2. Neenzymové vysokomolekulární antioxidanty

Neenzymové vysokomolekulární antioxidanty je možné rozdělit na proteiny vázající atomy přechodných kovů v určitém oxidačním stupni a proteiny s thiolovými skupinami.

2.1. Proteiny schopné vázat přechodné prvky

Přechodné kovy mají poslední sféru svého elektronového obalu neúplně obsazenou, a proto se chovají jako volné radikály a značně se podílejí na radikálových reakcích. Z biogenních prvků mezi ně patří hlavně železo a měď, do organismu se však mohou dostat i další tranzitní kovy, jako např. nikl, kobalt, titan aj. V přítomnosti těchto kovů se z primárních redukčních produktů kyslíku (např. superoxidu) mohou tvořit sekundární a více účinné oxidanty (např. hydroxylový radikál). Na ochranu před vysokou toxicitou těchto produktů má lidská plazma k dispozici různé proteiny, které přechodné kovy vážou, nebo biologicky významné komplexy železa (např. hem). Koordináční vazba atomů kovů v určitém oxidačním stupni na proteinové struktury je v porovnání s nízkomolekulárními chelátory pevnější. Takovouto vazbou jsou tranzitní kovy vyřazovány z toxikologicky významných reakcí, a proto proteiny, které jsou schopné přechodné prvky do chelátových struktur vázat, řadíme mezi antioxidanty.

Transferin je protein krevní plazmy, který váže atomy Fe(III). Tento protein se v plazmě nachází ve značném přebytku, jeho vazebná kapacita je

³² RACEK, J., HOLEČEK, V. Enzymy a antioxidační ochrana organismu. Klinická biochemie a metabolismus, 7 (28), 1999, No. 4, str. 232-238

³³ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 180-188

naplněna jen na 20 – 30 %. Apo-transferin (transferin s oddisociovanými atomy Fe(III)) má velkou schopnost vázat atomy Fe(III), které se uvolnily z transferinu nebo jiných zdrojů. Tím inhibuje tvorbu hydroxylového radikálu a peroxidaci lipidů, a působí tak antioxidačně. Podobným účinkem se vyznačuje také **laktoferin**, který se uvolňuje ze sekundárních granul polymorfonukleárních leukocytů a v malém množství je přítomen v plazmě zdravých osob. Atomy pevně vázané na laktoferin jsou jen velmi slabým katalyzátorem produkce $\cdot\text{OH}$ a lipoperoxidace.

Významným proteinem v metabolismu železa je také **feritin**, který se nachází v plazmě a v buňkách jako zásobní protein. Atomy železa jsou v něm vázány jako trojmocné. Železo se sice vstřebává jako dvojmocné, ale feritin vykazuje ferooxidázovou aktivitu, takže ihned po vstřebání je železo oxidováno. Narozdíl od transferinu, však feritin váže atomy Fe(III) jen slabou vazbou, ze které se tyto atomy mohou snadno uvolnit působením redukující látky, např. askorbátu.

Podobně jako volné železo se mohou i měď a „volný“ hem zúčastňovat radikálových reakcí. Prooxidační účinek hemu se může uplatnit přímo, pokud je atom železa vázán v oxidačním stupni (IV) nebo (V). Narozdíl od některých patologických stavů (např. hemoglobinopatie či mechanický stres erytrocytů), je však u zdravých osob „volného“ hemu v cirkulaci pouze minimální množství. Nepřímo prooxidačně bude hem působit v případě, že se atom Fe(II) uvolní z jeho chelátové struktury. K této situaci dochází, pokud je nedostatečná kapacita **haptoglobinu** a **hemopexinu**.

Haptoglobin je protein, který váže hemoglobin po jeho uvolnění z erytrocytu. Plazmatická bílkovina hemopexin váže samotný hem, pokud dojde k jeho uvolnění. Teprve při silné hemolýze, kdy už kapacita těchto bílkovin nestačí, se mohou projevit nepříznivé účinky hemoglobinu, a tedy i poškození organismu volnými radikály. Tak je tomu např. při hemolytické krizi u nemocných s hemolytickou anémií, při nevhodném skladování krve dárců či při velkém intrakraniálním krvácení.

Ceruloplazmin je protein, který transportuje atomy Cu(II). Váže téměř všechny atomy Cu(II) vyskytující se v plazmě, které pak nejsou schopny v přítomnosti peroxidu vodíku tvořit hydroxylový radikál. Jeho antioxidační

působení se však projevuje i schopností oxidovat atomy Fe(II) na Fe(III) za současné redukce kyslíku na vodu bez vzniku reaktivních metabolitů kyslíku. Ceruloplazmin proto označujeme rovněž jako ferooxidázu I. Je také schopen přímé reakce se superoxidem. Těmito vlastnostmi se ceruloplazmin řadí k nejvýznamnějším extracelulárním antioxidantům člověka.

2.2. Proteinthioly

Reaktivitu volných radikálů významně ovlivňují rovněž thiolové skupiny některých proteinů. Lidský **albumin**, nejvíce zastoupený plazmový protein, má specifická vazebná místa pro mnoho různorodých látek, mezi které patří např. vyšší karboxylové kyseliny, tetrapyroly nebo také Cu(II). Jeho antioxidační schopnost se spojuje s vazbou atomů mědi (II) a hemu, čímž je zajištěna ochrana proti oxidačnímu poškození jiných molekul v extracelulárním prostoru. Albumin však neinhibuje radikálové reakce iniciované atomy Fe(II). Je také označován jako „sebeobětující“ antioxidant. Váže atom Cu(II), který je poté peroxidem vodíku oxidován na Cu(III) a v této formě poškozuje okolní struktury albuminu, které jsou následně odstraněny z oběhu degradačními procesy. Albumin se však v plazmě vyskytuje ve značně vysoké koncentraci a jeho obměna je tak rychlá, že případné důsledky takovýchto poškození nejsou biologicky významné. Další významnou funkcí albuminu je ochrana proti oxidačnímu poškození kyselinou chlornou (HOCl), která je produkována myeloperoxidázou.

Metalothioneiny jsou proteiny, které obsahují mnoho cysteinů (33 %), ale žádné aromatické aminokyseliny. Syntetizují se v jádru buněk v určité fázi cyklu buněčného dělení. Jsou schopné vázat atomy kovů do chelátové struktury prostřednictvím síry cysteinových jednotek. Metalothioneiny mají detoxikační funkci při odstraňování iontů kovů z organismu, ale také fyziologickou úlohu při přenosu atomů kovů v daném oxidačním stupni do příslušných apoenzymů. Jejich syntéza se zvyšuje při oxidačním stresu a jsou rovněž schopné vylučovat hydroxylový radikál.

Oxidační stres také indukuje syntézu **chaperonů**. Základní funkcí těchto proteinů je rozpoznat oxidačně poškozené proteiny, navázat je na sebe a urychlit jejich odstranění v proteosomech. Mohou se účastnit také při opravách

konformace proteinů, a proto jsou považovány za součást systému reparujícího tkáň po oxidačním poškození.

3. Neenzymové nízkomolekulární antioxidanty

Vedle vysokomolekulárních enzymových i neenzymových antioxidantů zasahují do metabolismu významně také nízkomolekulární antioxidanty. Podle rozpustnosti je dělíme na hydrofilní a lipofilní. Mohou se vyskytovat jak v buňkách, tak i v mimobuněčném prostoru.

3.1. Kyselina askorbová (vitamin C)

Kyselina askorbová působí jako nutný kofaktor řady enzymů, např. při syntéze kolagenu či přeměně dopaminu na noradrenalin. Je dobře rozpustná ve vodě. Lidský organismus není schopen si ji syntetizovat a musí ji přijímat v potravě jako vitamin C. Je také důležitým redukčním činidlem. Redukuje Fe(III) na Fe(II) a Cu(II) na Cu(I), čímž umožňuje vstřebávání železa ze střeva a využití přechodných prvků v aktivním centru hydroxyláz. Ve vysoké koncentraci je však kyselina askorbová schopná uvolnit železo z vazby na transportní protein a redukovat ho zpět na Fe(II), které poté může vstoupit do Fentonovy reakce. Bylo prokázáno, že kombinovaná suplementace vitaminu C a železa působí oxidační poškození DNA a podporuje lipoperoxidaci.

Působením volných radikálů se kyselina askorbová oxiduje do dvou stupňů: na semidehydroaskorbát (askorbylový radikál) a dehydroaskorbát. V buňkách se nachází hlavně kyselina askorbová (AA), protože kyselina dehydroaskorbová (DHAA) je u zdravých osob ihned enzymově redukována. Hromadění DHAA může v mikromolárních koncentracích porušit buněčnou membránu a zvýšit vnímavost k oxidačnímu stresu.

Vitamin C je také potřebný pro regeneraci vitaminu E po jeho přeměně na tokoferoxylový radikál, k čemuž dochází působením volných radikálů. V tomto případě kyselina askorbová spolupracuje s glutathionem a jinými antioxidanty.

3.2. Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E je název používaný pro skupinu osmi derivátů, z nichž biologicky nejúčinnější je α -tokoferol. Vitamin E má lipofilní charakter, který je způsoben

vedlejším izoprenovým řetězcem. Je typickým zástupcem membránových antioxidantů, uplatňuje se v antioxidační ochraně lipidů biologických membrán a lipoproteinových částic plazmy. Reaguje s meziprodukty lipoperoxidace, alkylperoxylovými radikály lipidů (LOO^\cdot), a mění je na hydroperoxydy (LOOH), které jsou následně rozkládány působením enzymu glutathionperoxidázy. Tím je řetězec lipoperoxidace přerušen, alkylperoxylové radikály již dále nemohou napadat molekuly mastných kyselin a propagace reakce se zastavuje. Tokoferol se přitom mění na tokoferoxylový radikál, který je stabilnější než látky, s nimiž tokoferol reaguje. Tím se vitamin E inaktivuje a ztrácí svou antioxidační aktivitu. Tokoferoxylový radikál navíc může za určitých okolností působit jako oxidant a poškozovat další molekuly. Proto je nezbytné zajistit zpětnou redukci tokoferoxylového radikálu, tj. vlastně regeneraci vitaminu E v jeho původní podobě s aktivní hydroxylovou skupinou na aromatickém jádře. Tento úkol plní obvykle kyselina askorbová, která se mění na askorbylový radikál. Protože kyselina askorbová je hydrofilní a vitamin E lipofilní, probíhá tato reakce na rozhraní dvou fází - lipidové v buněčné membráně nebo v částici lipoproteinu a vodné v okolní cytoplazmě či krevní plazmě. Kyselina askorbová je následně regenerována pomocí GSH s celým systémem regenerujícím tento antioxidant v jeho redukované formě. Místo glutathionu se mohou uplatnit také jiné antioxidanty, např. bilirubin, kyselina močová či 3-hydroxyantranilová.

V poslední době se ukazuje, že α -tokoferol má v buňce také signální funkci. Modifikuje aktivitu nukleárních transkripčních faktorů či proteinkinázy C, a podílí se tedy na regulaci takových buněčných pochodů, jako je proliferace či apoptóza.

3.3. Karotenoidy

Karotenoidy jsou pigmenty rostlinného nebo mikrobiálního původu, které se svou strukturou řadí mezi izoprenové sloučeniny (patří mezi terpeny). Karotenoidy jsou lipofilní látky, proto jsou pro jejich vstřebávání v tenkém střevě nezbytné žlučové kyseliny. V současné době je známo asi 600 derivátů karotenoidů, z toho přibližně 10 % má aktivitu provitaminu A a může se metabolizovat na retinol (vitamin A_1), který po oxidaci na retinal hraje významnou úlohu v sítnici v mechanismu vidění. Přeměna karotenoidů na retinal se ovšem

uskutečňuje také v tukových buňkách, plicích, ledvinách a ve žlutém tělísku. Nejdůležitější karotenoidy jsou β -karoten, α -karoten, lykopen, lutein a zeaxantin. Nejrozšířenější je β -karoten, který představuje asi 90 % všech karotenoidů lidské plazmy a je také největším zdrojem vitamínu A, který z něho štěpením v organismu vzniká.

V antioxidační ochraně se karotenoidy uplatňují při odstraňování radikálů centrovaných na uhlík a alkylperoxylových radikálů (ROO^\cdot) v lipidech. Přesný mechanismus jejich působení není stále úplně objasněn, zdá se však, že se uplatňují prostřednictvím tokoferolu. β -karoten dále velmi účinně zhasí singletový kyslík (mění tuto excitovanou formu na běžný tripletový kyslík). Antioxidanty s takovou schopností se označují jako zhasěči (quenchers). β -karoten plní i další funkce, které s antioxidační ochranou nesouvisí, např. působí jako inhibitor lipoxxygenázy a 3-hydroxy-3-methylglutarylkoenzym A reduktázy, klíčového enzymu biosyntézy cholesterolu. Ukazuje se také, že β -karoten pozitivně ovlivňuje mezibuněčnou komunikaci působením na specifické komunikační kanály. Tímto způsobem může bránit karcinogenezi.

3.4. Ubichinol (koenzym Q_{10})

Koenzym Q_{10} je antioxidant a látka nutná pro využití energie v organismu. V lidském těle se ho nachází zhruba 2 g. Je přijímán potravou, ale organismus je také schopen si ho syntetizovat. Jedná se o benzochinon, který má lipofilní postranní řetězec s deseti izoprenovými jednotkami. V některých potravinách se nachází koenzymy s nižším obsahem izoprenoidů (Q_{1-9}), z nichž si však tělo v játrech syntetizuje formu Q_{10} . U starých lidí je biosyntéza jak z prekurzorů Q_{1-9} , tak de novo z acetyl-CoA zpomalená, což se projevuje sníženou hladinou koenzymu Q_{10} .

Koenzym Q_{10} se vyskytuje v mitochondriích, kde se uplatňuje při přenosu elektronů jako součást dýchacího řetězce. Je však obsažen i v jiných membránách prakticky všech buněk (odtud název ubiquinol - z anglického ubiquitous, což znamená všudypřítomný) a působí jako důležitý lipofilní antioxidant.

V lipidech, zvláště pokud obsahují velké množství polyenových mastných kyselin, brání ve spolupráci s tokoferolem lipoperoxidaci a sám je oxidován na

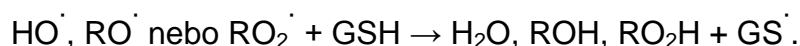
ubichinon. Zřejmě pomáhá při regeneraci vitamínu E z tokoferylových radikálů. Podílí se také na regeneraci kyseliny askorbové v extracelulární tekutině.

3.5. Thioly a disulfidy

V organismu existuje mnoho thiolových sloučenin, které se vyskytují buď volné (v redukované formě), nebo jsou kovalentně vázané na bílkoviny. Také se mohou nacházet ve formě dimerů (homo- nebo heterodisulfidy).

3.5.1. GLUTATHION

Glutathion je nejvýznamnějším intracelulárním neenzymovým antioxidantem. Tento tripeptid se vyskytuje v savčích buňkách v poměrně vysoké koncentraci (řádově mmol/l). Převažuje jeho redukovaná forma. Je jedním z nejdůležitějších redoxních pufrů buňky, velmi snadno se oxiduje a s další molekulou glutathionu tvoří glutathiondisulfid (oxidovaný glutathion-GSSG). Glutathion má významnou roli v ochraně organismu před oxidačním stresem. Jeho hlavním posláním je udržovat sulfhydrylové skupiny bílkovin, cysteinu či koenzymu A v redukované formě, která je většinou nezbytná pro jejich správnou funkci. Dále se podílí na regeneraci tokoferolu a askorbátu, zúčastňuje se přenosu aminokyselin přes buněčnou membránu, chrání DNA v buněčném jádře před oxidačním poškozením, detoxikuje peroxid vodíku a lipoperoxidy katalytickým účinkem glutathionperoxidázy nebo také funguje jako přímý lapač hydroxylového radikálu a singletového kyslíku. Reaguje tedy neenzymově s různými reaktivními formami kyslíku:



Glutathiolový radikál GS^\cdot je méně reaktivní než ROS. Může však reagovat s dalším GSH (disociovaným na GS^-) za vzniku velmi silného reduktantu – radikálu oxidovaného glutathionu ($\text{GSSG}^{\cdot-}$), který je schopen redukovat kyslík na superoxid: $\text{GSSG}^{\cdot-} + \text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + \text{O}_2^{\cdot-}$.

Proto je tolik důležitá návaznost těchto dějů na aktivitu SOD. Pokud není přítomen $\text{O}_2^{\cdot-}$, glutathiolový radikál se dimerizuje za vzniku GSSG a dalšího stabilního produktu (kyseliny glutathionsulfinové nebo glutathionsulfonové).

Pokles hladiny redukovaného glutathionu v buňkách je jedním z příznaků oxidačního stresu tkáně.

3.5.2. KYSELINA LIPOOVÁ

Kyselina lipoová je ve vodě nerozpustná látka, která se absorbuje přímo z potravy a velmi rychle se redukuje na kyselinu dihydrolipoovou, která je silnějším antioxidantem. Za fyziologických podmínek se nevyskytuje volná, ale jako lipoamid, ve kterém se kovalentně váže na lysinové jednotky proteinů. Kyselina lipoová je univerzálním antioxidantem, protože reaguje jak s alkylperoxylovými radikály (RO_2^\cdot), tak s askrobylovými radikály, HO^\cdot , NO^\cdot , tokoferyllovými radikály, $\text{O}_2^{\cdot-}$ a kyselinou chlornou. Jako antioxidant účinkuje také tím, že chelatuje ionty přechodných prvků a k jejím antioxidačním vlastnostem přispívá i schopnost kyseliny dihydrolipoové regenerovat semiubichinol, askorbát, oxidovaný glutathion a nepřímo i vitamin E.

3.6. Bilirubin

Bilirubin byl v minulosti chápán pouze jako nepotřebný degradační metabolit hemu. Tento lineární tetrapyrrol má však kromě metabolického i antioxidační význam. Vyskytuje se buď volný, nebo také vázaný na albumin či jiné proteiny. Obě formy pigmentu inhibují peroxidaci lipidů pravděpodobně tím, že regenerují α -tokoferol obsažený v lipoproteinech. Bilirubin (vázaný na albumin) se mění na biliverdin, který je rozpustný ve vodě a tím transportuje radikálovou reakci z LDL do vodné fáze. K jeho dalším funkcím patří ochrana vitaminu A před autooxidací, pomalu reaguje s oxidačně účinnou kyselinou chlornou a také zhasí singletový kyslík.

3.7. Kyselina močová

Podobně jako bilirubin, byla i kyselina močová původně chápána pouze jako katabolický produkt odbourávání purinových metabolitů. Později se však ukázalo, že je nejhojnějším antioxidantem plazmy, kde její koncentrace dosahuje hranice rozpustnosti. Svoji antioxidační funkci může kyselina močová plnit dvěma způsoby: přímou reakcí s některými volnými radikály (RO^\cdot či HClO) nebo chelatací iontů přechodných kovů (hlavně železa) z prostředí. Urátový radikál, který vzniká při přímé reakci kyseliny močové s volnými radikály, je následně regenerován především kyselinou askorbovou. Vazbou železa je zase zajištěna ochrana vitaminu C před oxidací. Existuje také hypotéza, že vysoká koncentrace

kyseliny močové přispěla k rozvoji vyšší nervové činnosti člověka a může být snad i příčinou výrazného prodloužení doby života – je prokázána významná pozitivní korelace mezi hladinou kyseliny močové v krvi a v mozku a délkou života živočišných druhů.

3.8. Melatonin

Melatonin (MLT) je hormon produkováný hlavně v epifyze, ale také v retině a jiných tkáních. U člověka tento hormon zasahuje především do řízení spánkového cyklu, ale i do regulace nástupu puberty. MLT je molekula rozpustná ve vodě i v tucích, prostupuje přes membrány i hematoencefalickou bariéru. Melatonin má také významný antioxidační účinek. Působí jako scavenger nitroxidového, peroxylového, hydroxylového radikálu a kyseliny chlorné, blokuje účinek singletového kyslíku a chrání před lipoperoxidací. Pro jeho antioxidační schopnost je ovšem nutná methoxy-skupina na 5. uhlíku.

Vazby melatoninu na buněčné jádro chrání DNA před oxidačním poškozením. To je zvláště důležité u obrany proti hydroxylovému radikálu, který účinkuje jen několik desetin nm od místa vzniku, ale poškozuje všechny čtyři dusíkaté báze. Jiné antioxidanty se do tak těsné blízkosti DNA nemusí dostat, proto je melatonin při neutralizaci volných hydroxylových radikálů účinnější než GSH. MLT rovněž stimuluje aktivitu glutathionperoxidázy v mozku a zvyšuje mRNA pro superoxiddismutázu v mozkové kůře. Stimuluje tedy genovou expresi antioxidačních enzymů. Význam melatoninu jako antioxidantu je však do určité míry zpochybňován faktem, že je produkován v noci, ačkoli k největšímu náporu volných radikálů dochází ve dne. Někteří autoři proto popírají antioxidační účinky fyziologických koncentrací melatoninu.

4. Polyfenolické antioxidanty

Polyfenoly patří mezi významné složky výživy s antioxidačním účinkem. Jsou obsaženy v rostlinné stravě, např. v ovoci, čaji, červeném víně či kakau. Tato skupina antioxidantů zahrnuje více než 4000 různých derivátů a její význam stále roste. Kromě různých kyselin (skořicová, kávová, ferulová aj.) připadá hlavní podíl mezi polyfenolickými látkami na tzv. flavonoidy, resp. jejich deriváty volně se vyskytující v přírodě (bioflavonoidy). Antioxidační účinek bioflavonoidů závisí

na jejich struktuře – poloze hydroxylových skupin a dvojných vazeb heterocyklického jádra. S volnými radikály reagují za tvorby dostatečně stabilních fenolických radikálů. Většina bioflavonoidů má hydrofilní charakter, ale i přesto jsou schopny procházet buněčnými membránami a snad se i uplatňovat v antioxidační ochraně nervové tkáně. Jejich antioxidační účinek je dán schopností přímo vázat peroxylové, hydroxylové a superoxidové radikály včetně peroxidu vodíku. Podílí se také na regeneraci vitaminů C a E. Dále jsou schopné vázat přechodné kovy do pevných chelátů a inhibovat enzymy, které katalyzují vznik volných radikálů (5-lipoxygenáza, NADPH-oxidáza)^{34, 35, 36, 37}.

D) VZTAHY MEZI ANTIOXIDANTY

Z předchozích odstavců vyplývá, že činnost všech antioxidantů je navzájem velmi úzce propojena. Superoxiddismutáza na jedné straně odstraňuje nejčastěji se vyskytující volný radikál, ale zároveň jej přeměňuje na peroxid vodíku, který má relativně dlouhý biologický poločas, poměrně lehce difunduje přes membrány a také způsobuje oxidační poškození buněk. Navíc může být peroxid vodíku působením přechodných kovů (Cu^+ , Fe^{2+}) přeměněn ve Fentonově reakci na vysoce reaktivní hydroxylový radikál. Proto na funkci superoxiddismutázy přímo navazují svou činností další enzymy, především glutathionperoxidáza a kataláza, které eliminují peroxid vodíku vznikající v reakcích katalyzovaných superoxiddismutázou. Fentonově reakci také brání skutečnost, že přechodné kovy se v organismu nevyskytují ve volné formě, ale vázané na bílkoviny, které rovněž řadíme k antioxidantům. Jako na všech

³⁴ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 54-67

³⁵ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, 1998, str. 179-257

³⁶ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 39-69

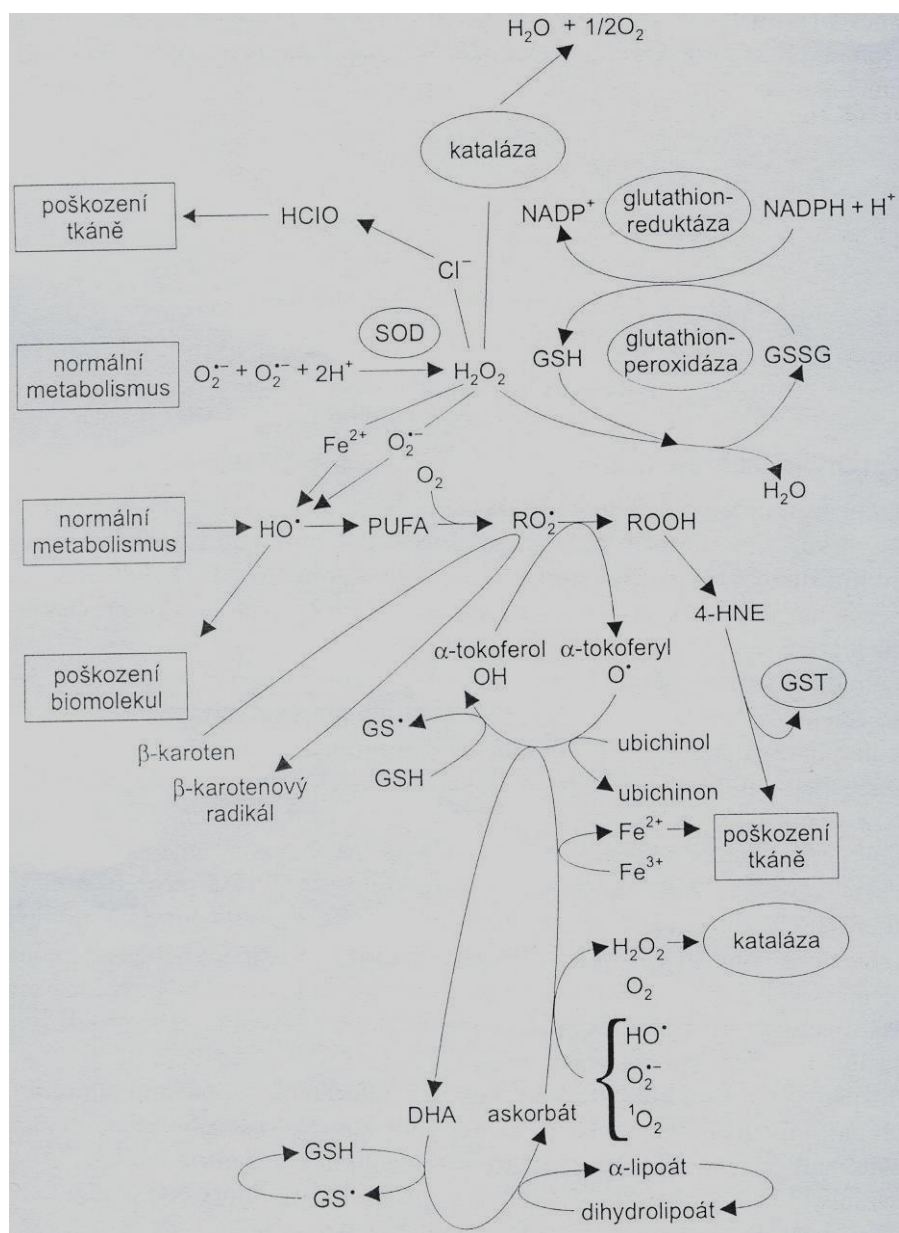
³⁷ RACEK, J., HOLEČEK, V., TREFIL, L. Ubichinol Q-10 (koenzym Q-10). Klinická biochemie a metabolismus, 7 (28), 1999, No.2, str. 92-95

úrovních metabolismu je i zde velmi důležitá rovnováha jak mezi jednotlivými antioxidačními enzymy, tak mezi antioxidačními enzymy a neenzymovými intracelulárními antioxidanty. Zvláště nepříznivé dopady na organismus má kombinace snížené aktivity glutathionperoxidázy a zvýšené aktivity superoxiddismutázy, kdy ve zvýšené míře vzniká peroxid vodíku, který je ovšem kvůli snížené aktivitě glutathionperoxidázy nedostatečně odstraňován, a tak dochází k oxidačnímu poškození organismu. Tento stav je možné pozorovat například u kuřáků, dialyzovaných diabetiků či u nemocných s Downovým syndromem. Ke správné funkci glutathionperoxidázy je navíc nutný dostatek redukovaného glutathionu, dále normální aktivita glutathionreduktázy a také přítomnost redukované formy NADPH. Nedostatek glutathionu i NADPH můžeme pozorovat např. u diabetiků, což je jedna z příčin oxidačního stresu u těchto nemocných ^{38, 39}.

³⁸ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 67-69

³⁹ RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Galén, 2003, str. 48-49

Obr. 2 Reakční a funkční vztahy mezi antioxydanty ⁴⁰



⁴⁰ ŠTÍPEK, S. Antioxydanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 68

III. ONEMOCNĚNÍ RESPIRAČNÍHO SYSTÉMU

Plíce jsou jediným vnitřním orgánem, který je v přímém kontaktu se zevním prostředím plochou přibližně 100 m². Asi 96 % této plochy představuje povrch alveolů, zbylá 4 % tvoří dýchací cesty. Takto obrovská kontaktní plocha činí dýchací ústrojí značně vnímavým ke kyslíku a všem dalším škodlivinám zevního prostředí (např. oxidy síry a dusíku, cigaretový kouř, ozón, azbest, oxid křemičitý či paraquat). Tyto látky řadíme mezi radikály nebo reagenty, které mohou v tkáních indukovat tvorbu reaktivních forem kyslíku nebo dusíku. ROS resp. RNS poškodí biomolekuly plicní tkáně (především membránové lipidy), endotelové buňky a ovlivní regulační buněčné mechanismy (receptorovou aktivitu a buněčnou signalizaci, intenzitu tvorby eikosanoidů z kyseliny arachidonové). Z poškozených struktur se následně uvolní chemoatraktanty přivolávající makrofágy a leukocyty, které aktivují endogenní mediátory. Dochází tedy k vyvolání zánětlivých změn, kdy leukocyty, zejména neutrofily (polymorfonukleární leukocyty) a další buňky (alveolární makrofágy) začínají tvořit obrovské množství superoxidu, který se přeměňuje na další reaktivnější formy kyslíku. Ty pak oxidují lipidy buněčných membrán, inaktivují některé proteiny (α_1 -antitrypsin), poškozuji nukleové kyseliny a podporují degradaci fibronektinu, kolagenu a kyseliny hyaluronové. V plicích se rozvíjí oxidační stres, který se poté projeví jako některá z častých nosologických jednotek (chronická obstrukční plicní nemoc, syndrom dechové tísně dospělých, astma bronchiale, poškození ozářením, ischemicko – reperfuční poruchy aj.).

ROS či RNS je možné u plicních chorob prokazovat specifickými metodami (stanovení fotometrií nebo chemiluminiscencí) v indukovaném sputu, v bronchoalveolární lavážní tekutině nebo v supernatantech krátkodobých buněčných kultur.

Plíce jsou samozřejmě na ochranu proti účinkům radikálů a jiných reaktivních sloučenin vybaveny specifickými antioxidačními mechanismy. Patří mezi ně např. glutathionový systém, superoxiddismutáza, kataláza, vitaminy A, C a E či albumin ⁴¹.

⁴¹ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 109

A) CHRONICKÁ OBSTRUKČNÍ PLICNÍ NEMOC (CHOPN)

Chronická obstrukční plicní nemoc je pomalu se vyvíjející onemocnění charakterizované obstrukcí dýchacích cest, která je z velké části ireverzibilní, progreduje a je spojena s abnormální zánětlivou odpovědí plic na škodlivé částice a plyny. Tato bronchiální obstrukce je vyvolána kombinací chronické bronchitidy (přítomnost chronického zánětu a kašle s expektorací sputa nejméně tři měsíce v roce alespoň ve dvou po sobě následujících letech) a plicního emfyzému (abnormální trvalé rozšíření dýchacích cest periferně od terminálních bronchiolů spojené s destrukcí jejich stěny bez přítomnosti fibrózy). Ireverzibilita bronchiální obstrukce je způsobena remodelací, přestavbou malých dýchacích cest a destrukcí plicního parenchymu právě v důsledku chronického zánětu ⁴².

1. Epidemiologie

Chronická obstrukční plicní nemoc je dnes celosvětovým problémem. Důvodem je vysoká prevalence, stoupající mortalita a také rostoucí náklady na léčbu. Výskyt chronické obstrukční plicní nemoci u pacientů před čtyřicátým rokem věku je poměrně vzácný, avšak v pozdějším věku se symptomy tohoto onemocnění objevují u stále většího počtu pacientů. Nejvyšší prevalence byla zjištěna ve věkové skupině nad 60 let. Velmi varující je také stále stoupající mortalita. Předpokládá se, že v roce 2020 se CHOPN dostane v celosvětovém měřítku na třetí místo v příčinách úmrtí. Důvodem zvyšující se mortality je jednak zhoršující se epidemie kouření a dále fakt, že se lidé dožívají vyššího věku. Náklady na léčbu nemocných s CHOPN jsou 2,5krát vyšší než na hospitalizaci nemocných s jinými diagnózami.

2. Etiologie a patogeneze

Chronická obstrukční plicní nemoc je zřejmě polygenním onemocněním. Vznik tohoto onemocnění se snaží vysvětlit dvě teorie – teorie nerovnováhy mezi proteázami a antiproteázami a teorie oxidačního stresu.

Jedinci s vrozeným deficitem sérového proteinu α_1 -antitrypsinu, který inhibuje mnoho serinových proteáz, jako je např. neutrofilní elastáza, mají

⁴² MUSIL, J. Patogeneze chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN). Vnitřní lékařství, 50, 2004, č. 9, str. 663-667

zvýšené riziko vývoje emfyzému. α_1 -antitrypsin kompletně blokuje působení elastázy uvolňované z neutrofilů, protože působí jako substrát pro tento enzym a tvoří s ním stabilní komplex. Tím chrání plicní elastin před poškozením vzniklým působením elastázy. Elastin, cíl pro neutrofilní elastázu, je hlavní komponentou alveolární stěny. Fragmenty elastinu mohou prolongovat zánět tím, že působí jako silné chemotaktické látky pro makrofágy a neutrofily. Tato pozorování vedla k hypotéze, že nerovnováha mezi proteázami a endogenními antiproteázami vede k destrukci plíce.

Většina nemocných s CHOPN však deficit antiproteáz nemá. Neutrofily těchto nemocných, jestliže jsou aktivovány, mají však schopnost uvolňovat elastázu ve zvláště vysokých koncentracích. Protože neutrofily migrují, množství lokálně uvolněné elastázy může převýšit schopnost inhibitorů blokovat tento enzym. Proto aktivace a migrace neutrofilů vede vždy k poškození pojivové tkáně. Na tomto zjištění je založena teorie, podle které je nejdůležitějším činitelem pro patogenezi CHOPN migrace neutrofilů do dýchacích cest, pojivových tkání a jejich degranulace uvnitř plicního parenchymu.

Nerovnováha mezi proteázami a antiproteázami může vzniknout buď zvýšenou tvorbou, či aktivitou proteáz, anebo inaktivací či sníženou tvorbou antiproteáz. Často je nerovnováha následkem zánětu vyvolaného inhalační expozicí. K nerovnováze však může dojít také snížením antiproteázové aktivity v důsledku oxidačního stresu (oxidační stres je též následkem zánětu), působením cigaretového kouře a zřejmě i dalších rizikových faktorů pro CHOPN, které zahrnují jak vlivy vlastní nemocnému, tak expozici ze zevního prostředí. Chronická obstrukční plicní nemoc je tedy typickým příkladem interakce mezi genetickou výbavou jedince a vlivem zevního prostředí. Mezi nejdůležitější rizikové faktory zevního prostředí patří tabákový kouř, profesní prachy a chemikálie a znečištění zevního ovzduší i ovzduší v místnostech.

Tab. 5 Rizikové faktory pro CHOPN⁴³

- Geny
- Expozice částicím
- Kouření
- Prachy z pracovního prostředí, organické a anorganické
- Znečištění domácího prostředí topením a vařením na biomase ve špatně ventilovaných obydlích
- Zevní znečištění
- Růst plic
- Oxidační stres
- Pohlaví
- Věk
- Respirační infekce
- Sociální a ekonomické postavení
- Nutrice
- Doprovodná onemocnění

Nejdůležitějším faktorem vedoucím ke vzniku CHOPN je kouření cigaret, které způsobuje jednak přímé poškození plic, ale také aktivaci zánětlivé odpovědi v plicní tkáni. Oxidativní nálož vyvolaná inhalací cigaretového kouře může být v plicích kuřáků později ještě zvýšena kyslíkovými radikály uvolňovanými z aktivovaných zánětlivých leukocytů (jak neutrofilů, tak makrofágů). Cigaretový kouř je složen z více než 4700 chemických látek (např. oxid uhelnatý, nikotin, amoniak, formaldehyd, acetaldehyd, krotonaldehyd, akrolein, benzo(a)pyren, benzen, izopren, ethan, pentan a další genotoxické a karcinogenní organické sloučeniny), včetně vysokých koncentrací oxidantů a volných radikálů (více než 10^{15} mol/na jedno vdechnutí). Volné radikály s krátkým biologickým poločasem,

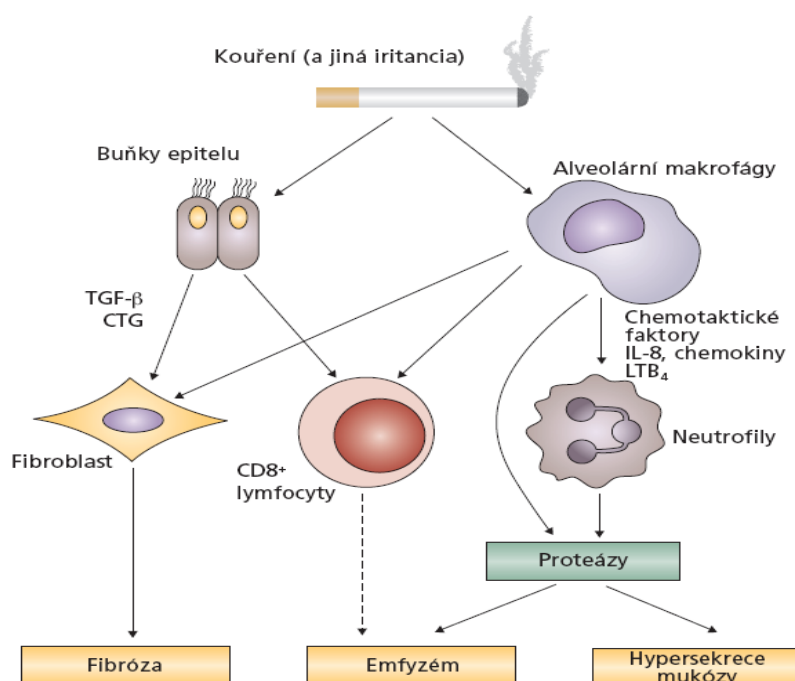
⁴³ MUSIL, J. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s CHOPN. Lékařské listy 2 – 29. 1. 2007, str. 5-9

jako je např. superoxidový radikál či oxid dusnatý, se vyskytují převážně v plynné fázi. Okamžitě spolu reagují a tvoří velmi reaktivní peroxynitrit. Dehtová fáze cigaretového kouře obsahuje převážně semichinonový radikál, který je schopen reagovat se superoxidovým radikálem a tvořit radikál hydroxylový nebo peroxid vodíku ⁴⁴.

Oxidanty obsažené v cigaretovém kouři poškozují komponenty plicní matrix (např. elastin či kolagen). Navíc může cigaretový kouř interferovat se syntézou či reparací elastinu, což potenciálně vede k rozvoji emfyzému ⁴⁵.

Vyšetření plic a indukovaného sputa prokázaly zánětlivou reakci v plicích u všech kuřáků cigaret. Zdá se, že zesílená a abnormální zánětlivá odpověď na inhalované částice a plyny je charakteristickým znakem CHOPN a způsobuje poškození plic.

Obr. 3 Stručný přehled patogeneze CHOPN ⁴⁶



⁴⁴ RAHMAN, I. Oxidative Stress in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Cell Biochemistry and Biophysics, 2005, Vol. 43, str. 169

⁴⁵ MACNEE, W. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proceedings of the American thoracic society, 2005, Vol. 2, str. 258-266

⁴⁶ PAUK, N. Strategie moderní léčby chronické obstrukční plicní nemoci. Farmakoterapie, 1/2008, str. 67-82

3. Zánětlivé změny

Zánět u chronické obstrukční plicní nemoci je zesílením normální zánětlivé odpovědi na chronické dráždivé látky, např. cigaretového kouře. Příčiny toho zesílení nejsou známy, ale mohou být geneticky podmíněny. Přestože kuřáctví je nejčastější příčinou rozvoje chronické obstrukční plicní nemoci, u některých nemocných se CHOPN vyvine, aniž by kdy kouřili. Povaha zánětu u těchto nemocných je nejasná. Zánět v plicích je pak u všech nemocných dále zesilován oxidačním stresem a nadbytkem proteáz.

Zánět ve stěně bronchů bývá přítomen již v časných stádiích nemoci. Zánětlivou infiltraci ve sliznici tvoří především mononukleární buňky (lymfocyty a monocyty), zatímco v hlenu dýchacích cest jsou to hlavně neutrofily. Avšak na zánětu se mohou podílet také eozinofily. V indukovaném sputu je možné prokázat také zvýšení koncentrace leuktrienu B₄ (LTB₄), tumorového nekrotizačního faktoru α (TNF α) a interleukinu 8 (IL-8). Vazba LTB₄ na receptor na povrchu neutrofilních leukocytů vede k jejich aktivaci a k produkci kyslíkových radikálů⁴⁷.

V průběhu patologických procesů dochází k metaplazii pohárkových buněk, která má přímý vztah ke kouření. Bylo prokázáno, že část buněk zánětu vzniká z jejich prekurzorů v dýchacích cestách, ale většina se do stěny bronchů dostává z cév pomocí interakce s adhezivními molekulami endotelu.

Chronický zánět je příčinou remodelace a zúžení malých dýchacích cest. Destrukce plicního parenchymu a také zánět vedou ke ztrátě spojení alveolů s malými dýchacími cestami. Dochází ke snižování elastického napětí plic. Tyto změny zmenšují schopnost dýchacích cest zůstat otevřené během výdechu. Vzniká obstrukce, která je ireverzibilní. U části nemocných je též přítomna bronchiální hyperreaktivita na nespecifické dráždivé podněty. Za ireverzibilní a reverzibilní složku obstrukce jsou zodpovědné odlišné mechanismy.

Ireverzibilní složka obstrukce je vyvolána proteolytickou destrukcí sítě elastin – kolagen a plicní fibrózou, deformací a obliterací malých bronchiolů. Za

⁴⁷ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 112-113

reverzibilní složku odpovídá kontrakce hladké svaloviny, hypersekrece a stáza vazkého hlenu, edém sliznice a zánět ⁴⁸.

4. Role oxidačního stresu

Tradičně se mechanismus působení oxidantů (pocházejících ze zevního prostředí či uvolněných z aktivovaných neutrofilů) v patogeneze CHOPN vysvětluje inhibicí α_1 -antitrypsinu. Za příčinu vzniku CHOPN je z tohoto hlediska pokládána aktivace buněk, která vede k nekontrolované a místně nevhodné produkci oxidantů. Ty se tvoří v endoteliálních i epiteliálních buňkách, ale nejdůležitější pro jejich tvorbu jsou zánětlivé buňky (granulocyty a makrofágy). Jak již bylo uvedeno, množství zánětlivých buněk u nemocných s CHOPN roste a tento nárůst tedy představuje zvětšený potenciál pro tvorbu oxidantů. Také fagocyty mohou vytvářet lokálně vysoké koncentrace oxidantů.

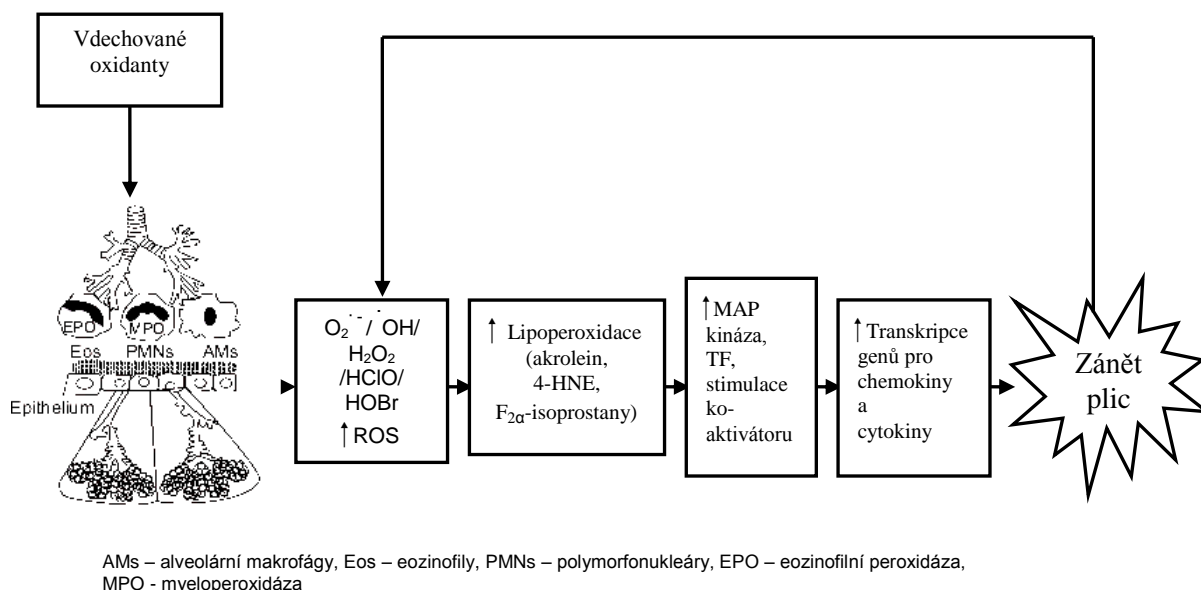
Preferovaným místem pro působení volných radikálů jsou tuky a mastné kyseliny buněčných membrán. Dochází k peroxidaci lipidů a hromadění produktů této reakce, např. malondialdehydu, 4-hydroxy-2-nonenalu, akroleinu a F2-isoprostanů. Koncentrace těchto produktů v plazmě nebo bronchoalveolární laváži měřená pomocí reaktivní substance kyseliny thiobarbiturové (thiobarbituric acid-reactive substance = TBARS) jsou signifikantně zvýšeny u kuřáků a nemocných s akutní exacerbací CHOPN. Následkem působení produktů lipoperoxidace dochází k poškození membránových funkcí, inaktivaci receptorů a enzymů vázaných na membránu a vzrůstu tkáňové permeability ^{49, 50}.

⁴⁸ MUSIL, J. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s CHOPN. Lékařské listy 2 – 29. 1. 2007, str. 5-9

⁴⁹ RAHMAN, I., ADCOCK, I.M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. European respiratory journal, 2006, Vol. 28, Num. 1, str. 219-242

⁵⁰ MUSIL, J. Patogeneze chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN). Vnitřní lékařství, 50, 2004, č. 9, str. 663-667

Obr. 4 Mechanismus zánětlivé reakce plic způsobené ROS ⁵¹



Jedním z dalších negativních důsledků působení oxidačního stresu na plíce při CHOPN je zvýšená produkce hlenu v dýchacích cestách. Oxidanty jsou zapojeny do signální kaskády pro epidermální růstový faktor, který má v regulaci produkce hlenu velmi významnou roli. Navíc peroxid vodíku a kyselina chlorná už v poměrně nízkých koncentracích (100μM) způsobují poškození řasinkového epitelu, čímž dovršují stázi vazkého hlenu.

Oxidativní stres se také velmi výrazně podílí na zesilování zánětu prostřednictvím zvýšení tvorby transkripčních faktorů, jako např. NF-κB, AP-1 či Jun (c-Jun N-terminální kinasa). Geny pro mnoho zánětlivých mediátorů jsou regulovány pomocí transkripčního faktoru NF-κB, který je přítomen v cytosolu v inaktivní formě vázaný na svůj inhibiční protein IκB. Značné množství podnětů, včetně působení cytokinů a oxidantů, zapříčiní aktivaci IκB kinázy, která vede k fosforylaci proteinu IκB, jeho odštěpení od transkripčního faktoru NF-κB a nakonec destrukci IκB. Tento rozhodující bod v zánětlivé odpovědi je redox-sensitivní ⁵².

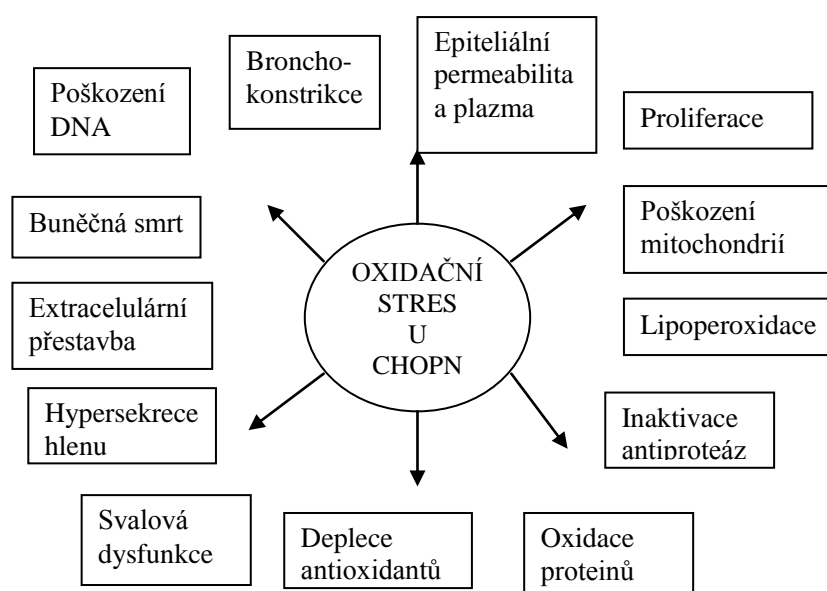
⁵¹ RAHMAN, I., ADCOCK, I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. European respiratory journal, 2006, Vol. 28, Num. 1, str. 219-242

⁵² MACNEE, W. Pulmonary and Systemic Oxidant/Antioxidant Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proceedings of the American thoracic society, 2005, Vol. 2, str. 50-60

U pacientů s těžkou formou chronické obstrukční plicní nemoci dochází k dysfunkci dýchacích a periferních kosterních svalů. Tato dysfunkce spolu s váhovým úbytkem a omezením při zátěži je významným znakem systémových komplikací způsobených CHOPN. I na těchto projevech se podílí oxidační stres, ke kterému dochází v kosterních svalech v průběhu jejich námahy, vyčerpání nebo při dysfunkci vyvolané zánětem. U pacientů s těžkou CHOPN je tento stav navíc doprovázen zvýšenou zátěží na jejich bránici. Tyto komplikace jsou zapříčiněny hypoxií, poškozeným mitochondriálním metabolismem a rostoucí aktivitou cytochrom-c oxidázy v kosterních svalech pacientů s CHOPN. U těchto nemocných bylo také prokázáno, že funkce elektronového transportního řetězce v mitochondriích dýchacích svalů je signifikantně zesílena, což je spojeno se vzrůstem nároků na dýchací svaly a oxidačním stresem⁵³.

Odpovídajícím důkazem toho, že oxidační stres působí také v cirkulaci, je průkaz snížení antioxidační kapacity u chronických kuřáků (k dalšímu poklesu dochází po vykouření cigarety) a při exacerbacích CHOPN.

Obr. 5 Buněčná odpověď vyvolaná volnými radikáli při CHOPN⁵⁴



⁵³ RAHMAN, I. Oxidative Stress in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Cell Biochemistry and Biophysics, 2005, Vol. 43, str. 167-188

⁵⁴ RAHMAN, I. Oxidative Stress in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Cell Biochemistry and Biophysics, 2005, Vol. 43, str. 167-188

5. Využití antioxidantů v terapii CHOPN

Vztah mezi antioxidanty, plicními funkcemi a vývojem chronické obstrukční plicní nemoci zkoumalo několik studií. Při studii NHANES I (The National Health and Nutrition Examination Survey) bylo prokázáno, že nižší příjem vitamínu C vedl přímo ke snížení FEV₁ (množství vzduchu, které lze vydechnout z plic za jednu vteřinu, tzv. jednovteřinový usilovný výdech označovaný jako FEV₁ - z angl. forced expiratory volume in 1 sec) ve studované populaci. Vyšší protektivní efekt vitamínu C byl pak prokázán u pacientů se zánětem průdušek. Data získaná ze studie NHANES II dokázala nepřímý vztah mezi množstvím vitamínu C (alimentárního i sérového) a chronickými respiračními symptomy. Ve studii NHANES III, která se zabývala hladinami alimentárního vitamínu C, E, selenu a β -karotenu, byl prokázán pozitivní vztah mezi hladinami těchto antioxidantů a plicními funkcemi.

Další studií, která se zabývala problematikou využití antioxidantů při ovlivnění chronických plicních onemocněních, je studie MORGEN (Dutch Monitoring Project for the Risk Factors for Chronic Diseases). I tato studie prokázala souvislost mezi vyšším příjmem vitamínu C a β -karotenu a vyšší hodnotou FEV₁ ve srovnání s nižším příjmem těchto antioxidantů. Na druhou stranu je však podle této studie vztah mezi množstvím vitamínu E a plicními funkcemi méně průkazný.

Některé další studie, včetně studie MORGEN, prokázaly také přímý vztah mezi příjmem ovoce a vyššími hodnotami FEV₁ a zároveň zmírněním symptomů u pacientů s CHOPN. Výsledky studie MORGEN také ukázaly pozitivní účinky flavonoidů na FEV₁ ⁵⁵.

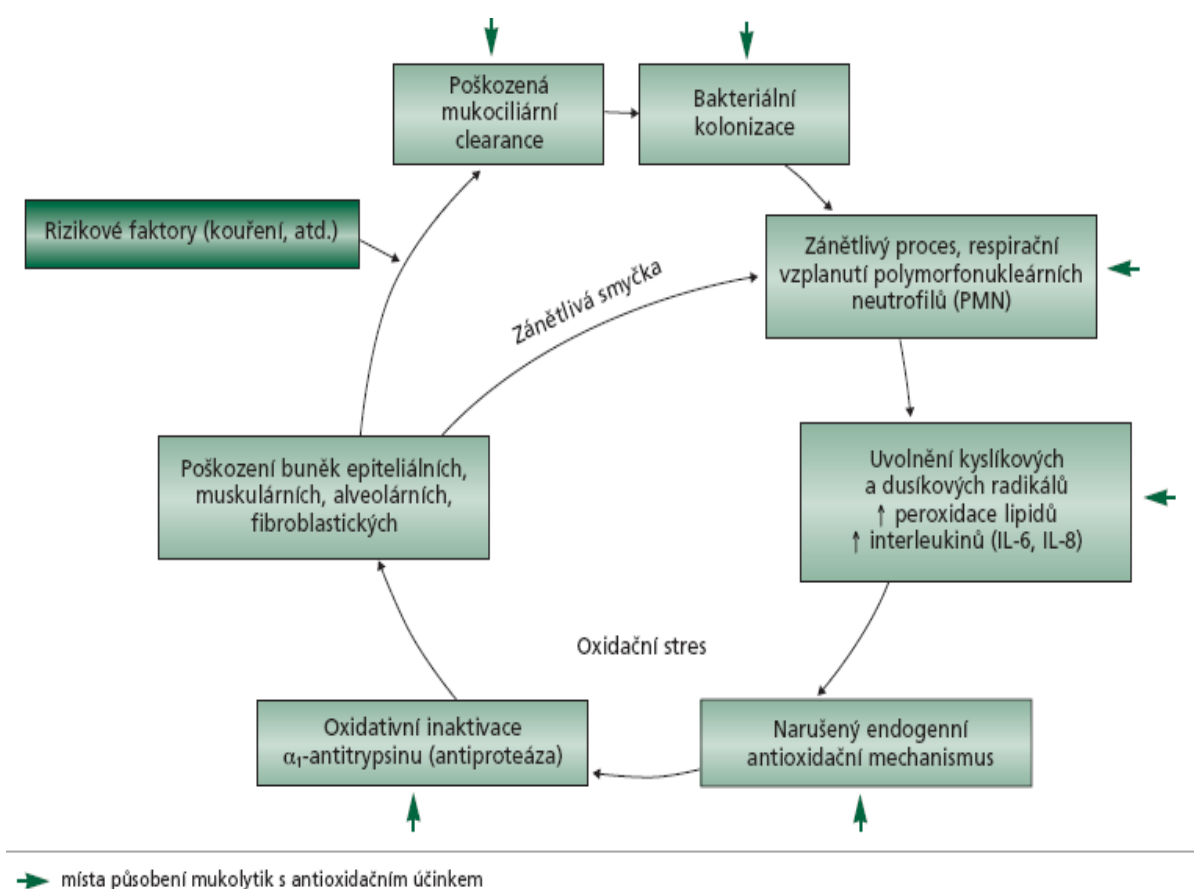
Antioxidanty však zatím nejsou v klinické praxi používány běžně. Zátěž kyslíkovými radikály lze snížit podáním např. acetylcysteinu, thioredoxinu, superoxiddismutázy či vitamínu A a C. Výhodné se zdá podávání N-acetylcysteinu či erdosteinu jako mukolytik s antioxidačním účinkem, která snižují četnost exacerbací ⁵⁶. Avšak studie Broncus (rok 2005) prokázala, že

⁵⁵ MACNEE, W. Pulmonary and Systemic Oxidant/Antioxidant Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proceedings of the American thoracic society, 2005, Vol. 2, str. 50-60

⁵⁶ PAUK, N. Strategie moderní léčby chronické obstrukční plicní nemoci. Farmakoterapie, [cit.26.2.2009]. Dostupné na World Wide Web: www.farmakoterapie.cz/cz/Clanek/9

N-acetylcystein v dávce 600mg/den neovlivňuje rychlost poklesu FEV₁ a vitální kapacity, četnost exacerbací a zdravotní stav pacientů s CHOPN. Pouze u pacientů, kteří neužívali inhalační kortikosteroidy, byla v této studii zaznamenána nižší četnost a závažnost exacerbací ve srovnání s placebem⁵⁷.

Obr. 6 Místa zásahu mukolytik v patogeneze CHOPN⁵⁸



⁵⁷ MATOUŠKOVÁ, P. Studie Broncus. Remedia, 2005, str. 292

⁵⁸ KOLEK, V. Současné názory na používání mukolytik. Farmakoterapie, 1/2006, str. 101-105

B) ASTHMA BRONCHIALE (AB)

Asthma bronchiale (astma) je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest charakterizované hyperreaktivitou a záchvatovitou dušností, která je doprovázena obtížným výdechem. Hlavními buňkami, které se tohoto zánětu účastní, jsou eozinofilní granulocyty, Th2 lymfocyty a žírné buňky. Méně se uplatňují neutrofilní a bazofilní granulocyty a makrofágy. Dále se na vzniku zánětu podílí zvýšená tvorba prozánětlivých mediátorů a úbytek epiteliálních buněk. Takto vyvolaný zánět dále stupňuje hyperreaktivitu průdušek, která se projevuje nepřiměřenou reakcí na některé podněty, např. alergenů, chemické látky, chladný vzduch či fyzickou námahu. Výsledkem hypersenzitivity jsou projevy bronchiální obstrukce, která je však reverzibilní (spontánně nebo následkem léčby). Zánětlivé buňky a buňky imunitního systému (např. makrofágy, neutrofily či eozinofily), které se ve zvýšené míře vyskytují v postižených dýchacích cestách, uvolňují u pacientů s AB značné množství reaktivních forem kyslíku. ROS pak mohou přímým oxidačním působením poškodit epiteliální buňky a zapříčinit jejich úbytek. ROS jsou rovněž schopny přímo stimulovat uvolňování histaminu ze žírných buněk a sekreci hlenu z epiteliálních buněk dýchacích cest. Mají tedy také schopnost navodit hyperreaktivitu dýchacích cest a jsou tak zapojeny do patogenezy astmatu⁵⁹.

1. Epidemiologie

Asthma bronchiale je chronické, celoživotní onemocnění dýchacích cest. Celosvětový počet astmatiků je odhadován na 150 milionů. Za posledních 20 let dochází na celém světě k nárůstu onemocnění především u dětí a mladistvých, kde se astma stává nejčastějším chronickým onemocněním. Tento trend je patrný i v České republice. Odtud pramení i stále rostoucí zdravotní a sociálně ekonomický dopad na jednotlivce i celou společnost. Navíc je astma na celém světě (včetně ČR) nedostatečně a pozdně diagnostikováno a také nedostatečně léčeno. Odhaduje se, že v ČR je stále nepoznáno asi 250 000 astmatiků.

Astma nelze zcela vyléčit, lze je však účinně dostat pod kontrolu. Včasná diagnóza a včasná a zároveň účinná léčba umožňuje u drtivé většiny nemocných

⁵⁹ KIRKHAM, P., RAHMAN, I. Oxidative stress in asthma and COPD: Antioxidants as a therapeutic strategy. *Pharmacology & Therapeutics*, 111 (2006), str. 476–494

zvládat toto onemocnění ambulantně. Neléčené astma vede k dlouhodobým funkčním změnám zhoršujícím výkonnost pacienta. Celková prevalence AB v ČR se odhaduje na více než 5 %. V dětské populaci již prevalence přesáhla 10 %. Úmrtnost na astma je v ČR tradičně velmi nízká a v posledních 10 letech kolísá kolem 1/100 000 obyvatel. Zvýšené riziko vzniku této nemoci je v rodinách, kde se vyskytují alergická onemocnění, především alergická rýma⁶⁰.

2. Etiologie a patogeneze

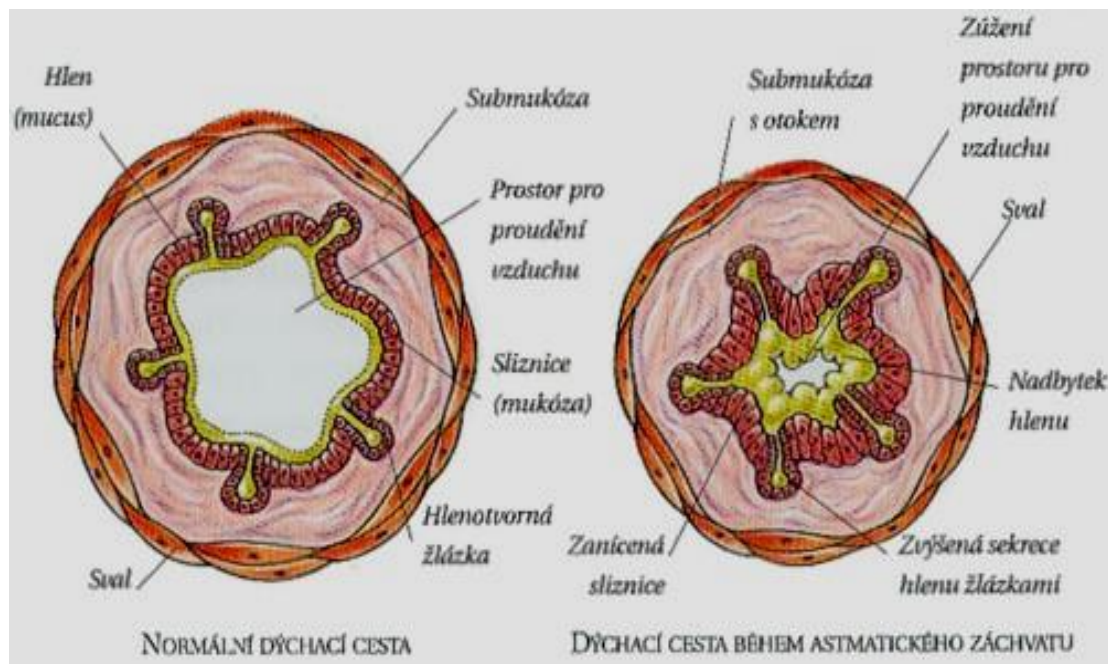
Na vzniku astmatu se podílí řada faktorů. Základem je však genetická predispozice jedince, na jejímž podkladu se mohou uplatnit další faktory. Více než polovina onemocnění astmatem je spojena s geneticky determinovanou atopií jedince, která je zároveň jedním z nejvýznamnějších rizikových faktorů pro vyvinutí tohoto onemocnění. Fenotypickým znakem AB je chronický eozinofilní zánět v dýchacích cestách (nikoli v plicním parenchymu) s poškozením epitelu, rozvojem časných strukturálních změn a s patofyziologickými projevy bronchiální hyperreakivity, na které má svůj podíl i dysfunkce hladkých svalů průdušek. Kontakt se specifickými (např. alergen) i nespecifickými (např. tělesná námaha, cigaretový kouř, smog) spouštěči vede k akutním příznakům astmatu s projevy bronchokonstrikce, zvýšené mukózní sekrece, edému, kašle a k amplifikaci zánětu. Důsledkem pozdě diagnostikovaného a pozdě léčeného zánětu je strukturální fibrotizační přestavba dýchacích cest s proliferací buněk, ztlustěním bazální membrány, subepiteliální fibrózou, hypertrofií a hyperplazií dýchacích svalů průdušek. Strukturální změny způsobí zafixování původně reverzibilní obstrukce. Zánětlivé změny jsou v dýchacích cestách přítomny trvale a je možno je prokázat i v době, kdy je nemoc asymptomatická, přičemž tíže eozinofilního zánětu koresponduje s přítomností bronchiální hyperreakivity.

⁶⁰ KAŠÁK, V., ŠPIČÁK, V., POHUNEK, P. Asthma bronchiale. ČSL JEP, Doporučné postupy pro praktické lékaře, [cit.1.3.2009]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.cipa.cz/navrh-pece-o-astma>

Tab. 6 Rizikové faktory vzniku astmatu a astmatického záchvatu

Vznik asthma bronchiale
<ul style="list-style-type: none"> • Genetická predispozice jedince • Atopie • Věk • Pohlaví • Alergeny – roztoči, prach, alergenů domácích zvířat, plísně, pylly • Chemické látky • Profesní senzibilizující látky • Tabákový kouř • Znečištění ovzduší
Vznik astmatického záchvatu
<p>Všechny faktory zmíněné výše a navíc:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Respirační infekce • Tělesná námaha • Změny počasí • Emoční stres

Obr. 7 Dýchací cesta během astmatického záchvatu⁶¹



⁶¹ Dostupné na World Wide Web: https://www.zdravcentra.sk/cps/rde/xchg/zcsk/xsl/47_1616.html

3. Zánětlivé změny

Mezi zánětlivé mediátory astmatu způsobující bronchokonstrikci a edém dýchacích cest patří histamin, cysteinylové leukotrieny (LTC₄, LTD₄ a LTE₄) a kininy. Důležitým cytokinem je IL-4, který indukuje syntézu IgE, působí jako růstový faktor B a T lymfocytů a NK buněk a rovněž inhibuje funkci makrofágů. Dalším významným cytokinem je IL-5, který působí jako růstový, diferenciatní a chemotaktický faktor eozinofilů. Právě z tohoto důvodu má IL-5 jednu z hlavních rolí v eozinofilním zánětu. K dalším eozinofilním chemoatraktantům patří eotaxin a RANTES, které patří mezi CC-chemokiny. Dominantním zánětlivým enzymem u AB je tryptáza žírných buněk, která má vztah k bronchiální hyperreaktivitě a k některým remodelačním změnám v průduškách.

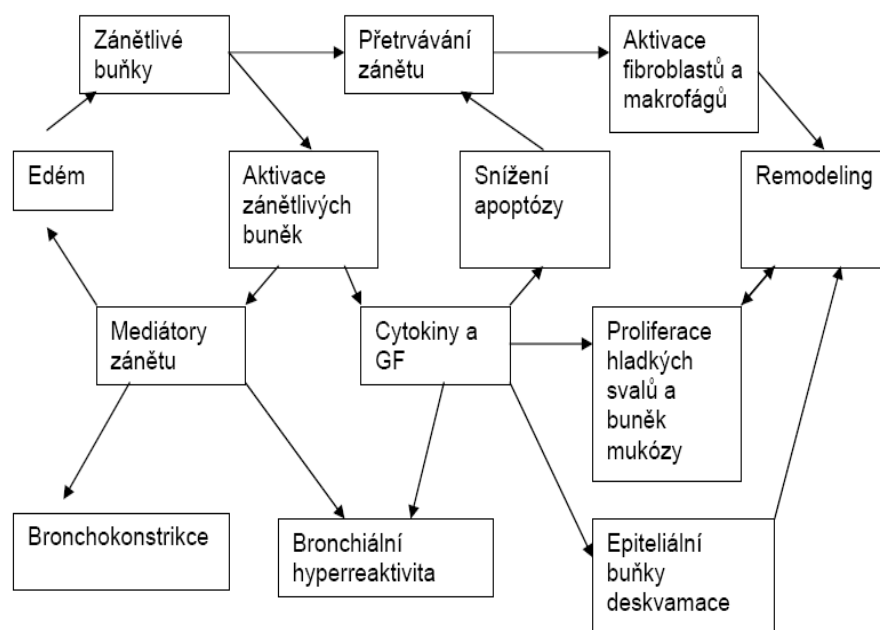
Eozinofilní zánět je tedy pro AB typický, ale přesto není úplně prostý neutrofilních granulocytů. Poměr eozinofil/neutrofil je však výrazně posunut ve prospěch eozinofilů. Výskyt většího množství neutrofilů u astmatiků může být přechodný a je patrný např. po akutních infekčních exacerbacích AB. K trvalému zvýšení počtu neutrofilů dochází u tzv. obtížně léčitelného astmatu ⁶².

Závažnost zánětu v dýchacích cestách je možné určit pomocí stanovení množství oxidu dusnatého či jeho metabolitu 3-nitrotyrosinu (NO⁺ oxidovaný derivát tyrozinu) ve vydechovaném vzduchu. Tyto hodnoty jsou signifikantně zvýšeny i u osob s lehkým perzistujícím astmatem. U nekontrolovaného středně těžkého a těžkého perzistujícího astmatu však vyšší hodnoty NO ve vydechovaném vzduchu v důsledku oxidativního stresu přetrvávají. U nemocných se stabilizovanou CHOPN není použití této metody relevantní, protože v tomto případě jsou koncentrace NO ve vydechovaném vzduchu stejné jako u zdravých osob ⁶³.

⁶² KAŠÁK, V. Diferenciální diagnóza asthma bronchiale a chronické obstrukční plicní nemoci. Alergie, 2000, č. 2, [cit.15.3.2009]. Dostupné na World Wide Web: www.tigis.cz/alergie/ALERG200/09.kasak.htm

⁶³ CHLÁDKOVÁ, J., CHLÁDEK, J., HOSPODKA, M., ČÁP, P. Oxid dusnatý a jiné reaktivní dusíkaté látky v dýchacích cestách: metody a význam jejich stanovení při monitorování zánětu. Alergie, 4/2003, str. 298302

Obr. 8 Patofyziologické a klinické důsledky asthma bronchiale⁶⁴



4. Role oxidačního stresu

Význam volných radikálů u astmatu není zatím dostatečně probádán. Ale jak již bylo zmíněno, pulmonální buňky pacientů s AB produkují zvýšené množství ROS. Mnohé studie prokázaly, že reaktivní formy kyslíku hrají klíčovou roli ve vzniku a zesilování zánětu v dýchacích cestách pacientů s astmatem. Nadměrná produkce ROS vede ke změnám v tvorbě důležitých enzymatických i neenzymatických antioxidantů, jako např. glutathionu, vitaminu C a E, β -karotenu, kyseliny močové, superoxiddismutázy, katalázy či glutathionperoxidázy, což způsobuje vznik nerovnováhy mezi oxidanty a antioxidanty v dýchacích cestách. Tato nerovnováha pak vede k usnadnění uvolňování kyseliny arachidonové z buněčných membrán, působí kontrakci hladkých svalů v dýchacích cestách, zvyšuje permeabilitu cév a produkci hlenu, podporuje syntézu chemotaktických látek a poškozuje β -adrenergickou odpověď.

⁶⁴ Dostupné na World Wide Web: <http://patf.lf1.cuni.cz/stumat/bronch.pdf>

Pokles aktivity superoxiddismutázy u pacientů s AB může sloužit jako ukazatel závažnosti astmatického zánětu. U tohoto onemocnění existuje přímý vztah mezi množstvím vzniklých ROS a jeho tíží.

Pokud se zánětlivé buňky (eozinofily, neutrofil, monocyt či makrofágy) dostanou do dýchacích cest, mohou být aktivovány a začít na základě různých podnětů produkovat oxidanty. Eozinofily, jejichž výskyt je pro dýchací cesty astmatiků typický, produkují značné množství superoxidového radikálu a oxidu dusnatého. Tyto dva radikály spolu vzápětí reagují za vzniku vysoce reaktivního peroxynitritu. Ze superoxidového radikálu vzniká dismutací také peroxid vodíku, který může být měřen ve vydechovaném vzduchu jako objektivní ukazatel probíhajícího oxidačního stresu ⁶⁵.

Přímé měření oxidantů (např. superoxidu, hydroxylového radikálu či peroxidu vodíku) je často velmi obtížné kvůli jejich značné reaktivitě a extrémně krátkému biologickému poločasu. Proto je oxidační stres měřen také pomocí hodnocení poškození různých biomolekul (lipidů, proteinů nebo deoxyribonukleové kyseliny) těmito oxidanty. V poslední době bylo u pacientů s AB nalezeno vzrůstající množství mnoha přímých i nepřímých ukazatelů oxidačního stresu (včetně superoxidu, peroxidu vodíku, malondialdehydu, reaktivních produktů kyseliny barbiturové nebo isoprostanů) např. v moči, plazmě, sputu, bronchoalveolární laváži či plicní tkáni. Tyto markery jsou důkazem působení oxidačního stresu na různé substráty, jako jsou proteiny (karbonyly, nitrotyrosin), lipidy (isoprostanů, aldehydy či ethan) a DNA (hydroxydeoxyguanosin). Jejich množství je často dobrým ukazatelem závažnosti onemocnění pacienta ⁶⁶.

Jedním z pozitivních následků oxidačního stresu je zvýšení produkce plicní MnSOD, která se nachází v mitochondriích a snižuje velikost plicního poškození reaktivními formami kyslíku. Její aktivitu v endoteliálních buňkách zvyšují TNF- α , IL-1, IL-6 a interferon- γ . I během akutního těžkého oxidačního stresu se tedy organismus snaží kompenzovat negativní vlivy ROS a reaguje zvýšením

⁶⁵ DWORSKI, R. Oxidant stress in asthma. *Thorax*, 2000, 55 (Suppl 2), str. 51-53

⁶⁶ NADEEM, A., NASPOD, A., SIDDIQUI, N. Oxidant–antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2008, 2(4), str. 215–235

antioxidační obrany. Pro tuto obranu je však důležitější rovnováha a souhra SOD, GSHPx a KAT než aktivity jednotlivých antioxidačních enzymů ⁶⁷.

Poškození hladkých svalů dýchacích cest reaktivními formami kyslíku

V mnoha studiích se prokázal přímý vliv peroxidu vodíku na kontrakci hladkých svalů dýchacích cest. Bylo také dokázáno, že peroxid vodíku stimuluje proteinkinázu MAPK (mitogen activating protein kinase), která je zapojena do řízení proliferace tracheálních myocytů (v jejich cytoplazmě se nachází aktino-myosinový komplex umožňující jejich kontrakci). Kromě tohoto přímého vlivu na kontraktilitu hladkých dýchacích svalů mohou ROS ovlivnit reaktivitu dýchacích cest také prostřednictvím kontrahujících a relaxujících agonistů (např. acetylcholinu, methacholinu, histaminu, 5-hydroxy-tryptaminu, bradykininu či substance P). ROS a produkty jejich reakcí mohou také narušovat funkci β -adrenergických receptorů a rovněž snižovat jejich počet.

Při lipoperoxidaci kyseliny arachidonové způsobené volnými radikály mohou vznikat (nezávisle na činnosti cyklooxygenázy) sloučeniny podobné prostaglandinům. Zvýšené množství těchto tzv. isoprostanů bylo naměřeno u pacientů s onemocněním dýchacích cest a je známkou oxidativního poškození. Isoprostany mohou navozovat jak kontrakci, tak i relaxaci hladkých dýchacích svalů v závislosti na tom, o jaký typ izomeru a tkáně se jedná. Např. isoprostan 8-epi-prostaglandin F_{2α} (zvýšeně produkováný po expozici ozónu) je silně účinná kontraktilní sloučenina pro hladké dýchací svaly.

Poškození cév reaktivními formami kyslíku

ROS hrají významnou roli v patogenezi mnohých cévních onemocnění, jako je např. hypertenze, ateroskleróza či trombóza. Mají však také fyziologickou úlohu posílů mezi endoteliem a buňkami hladkých cévních svalů. Zkoumáním vlivu ROS na pulmonální cévy se však zabývalo jen málo studií. Přesto bylo prokázáno, že reaktivní formy kyslíku mohou vést k dysfunkci endoteliální bariéry s následným vzrůstem permeability pro tekutiny, makromolekuly a zánětlivé buňky.

⁶⁷ PEŠEK, M., RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály u onemocnění plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 1999, 59, č. 5, str. 211-215

Poškození nervů reaktivními formami kyslíku

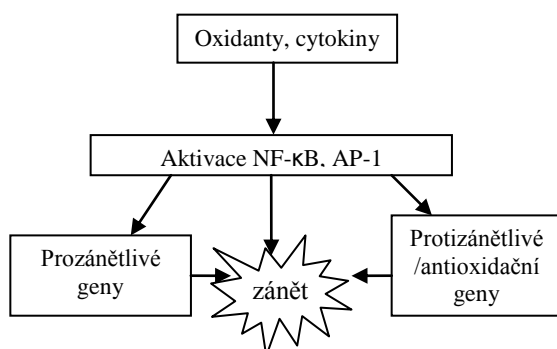
Vrstva epitelálních buněk, která byla poškozena zánětem a ROS, může vystavit chronickému dráždění a produktům zánětlivých procesů také pod ní ležící senzorické nervy, což vede k uvolnění neuropeptidů a k navození bronchokonstrikce. Např. krátká expozice zdravých jedinců ozónu stimuluje subepiteliální nervy ke zvýšené produkci substance P (člen rodiny peptidů nazývaných tachykininy; vyvolává kontrakci hladkých svalů) v dýchacích cestách. Ozón tedy snižuje aktivitu neutrální endopeptidázy, což vede ke zvýšení koncentrace a aktivity substance P⁴⁷.

Vliv reaktivních forem kyslíku na epitelální a zánětlivé buňky

Zdá se, že ROS slouží jako poslové, kteří ovlivňují aktivaci transkripce některých faktorů, jako např. nukleárního faktoru κB (NF- κB) nebo transkripčního faktoru AP-1 v mnoha buňkách, včetně buněk epitelálních a zánětlivých. Aktivace těchto faktorů vede k expresi genů pro mnohé prozánětlivé cytokiny (např. TNF- α , IL-1 β , IL-6 a IL-8), enzymy (např. indukovatelné izoformy syntázy oxidu dusnatého - iNOS, cyklooxygenázy-2 a γ -glutamylcystein syntetázy) a adhezivní molekuly zapojené do zánětlivé odpovědi (např. E-selektin či ICAM-1). ROS také způsobují zvýšení exprese adhezivních molekul CD 11b a CD 18 se současným úbytkem L-selektinu na povrchu lidských neutrofilů. Tyto účinky zesilují adhezi neutrofilů na cévní endotel⁶⁸.

⁶⁸ HENRICKS, P., NIKAM, F. Reactive Oxygen Species as Mediators in Asthma. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics , 2001, 14, str. 409–421

Obr. 9 Vliv reaktivních forem kyslíku na epiteliální a zánětlivé buňky⁶⁹



Produkce reaktivních forem kyslíku a následný oxidační stres v dýchacích cestách pacienta s AB může přispívat k rozvoji zánětlivého poškození, oxidativního poškození proteinů a buněčných membrán, způsobovat ztrátu elasticity a vést k dalším následkům v neustálém koloběhu zánětu a snahy organismu o jeho nápravu.

5. Využití antioxidantů v terapii AB

Při terapii oxidačního stresu u pacientů s astmatem máme dvě možnosti: omezit vystavení pacientů reaktivním formám kyslíku nebo zvýšit antioxidační ochranu.

Některé studie předpokládají, že u pacientů s astmatem je vhodné omezit expozici oxidantům z vnějšího prostředí (např. dusitanům či ozónu). Tím může dojít ke snížení astmatických exacerbací díky zeslabení aktivity pulmonálních zánětlivých buněk. Například ozón snižuje FEV₁ o 12,5 % ve srovnání s filtrovaným vzduchem⁷⁰.

Několik studií prokázalo, že příjem antioxidantů potravou ovlivňuje citlivost plic vůči expozici alergenům a dráždivým podnětům. Nízký příjem vitamínu C a manganu je spojen se vzrůstajícím rizikem vzniku hyperreakivity dýchacích

⁶⁹ SRBOVÁ, M., WILHELM, J. Markery obsažené ve vydechovaném vzduchu při plicních onemocněních. Časopis českých lékařů, 2003, 142, č.3, str. 140-143

⁷⁰ BOWLER, R., CRAPO, J. Oxidative stress in allergic respiratory diseases. Molecular mechanisms in allergy and clinical immunology, 2002, str. 349-356

cest. V dalších studiích bylo zjištěno, že vyšší množství vitamínu C má přímý vliv na vyšší hodnoty FEV₁.

Suplementace selenem u pacientů s astmatem zvyšuje aktivitu na selenu závislé glutathionperoxidázy a mírní klinické symptomy s ohledem na aktuální stav každého pacienta.

N-acetyl-L-cystein (NAC) je sloučenina obsahující thiol. Je používán ke snižování viskozity a elasticity hlenu v dýchacích cestách. Navíc je NAC schopen vychytávat peroxid vodíku, hydroxylový radikál a kyselinu chlornou. Deacetylaci vzniká z NAC cystein, který je významným prekurzorem buněčné syntézy glutathionu, a tak podporuje funkci buněčného glutathionového systému. V dnešní době je acetylcystein používán v klinické praxi k terapii chronické bronchitidy, cystické fibrózy, syndromu dechové tísně dospělých (ARDS) a také ke kompenzaci toxického působení oxidačního stresu v plicích.

Další podobnou látkou ze skupiny mukolytik je ambroxol, který je rovněž schopen vychytávat hydroxylový radikál a kyselinu chlornou. Inhibuje také migraci a aktivaci leukocytů. U pacientů s AB bylo také prokázáno, že ambroxol snižuje bronchiální reaktivitu na methacholin.

Apokynin je inhibitorem NADPH-oxidázy. Je tedy schopen úplně bránit tvorbě ROS granulocyty a makrofágy. Další výzkumy navíc prokázaly, že tato látka zvyšuje syntézu glutathionu prostřednictvím aktivace transkripčního faktoru AP-1 v alveolárních epitelálních buňkách typu II. Snižuje rovněž poškození endotelálních buněk způsobené neutrofily.

Také v terapii AB nejčastěji používané kortikosteroidy mají antioxidační účinky. Jejich hlavním cílem je snižování zánětu prostřednictvím inhibice činnosti transkripčních faktorů (např. NF- κ B), což vede k redukci množství prozánětlivých enzymů, cytokinů a jiných mediátorů, chemokinů a adhezivních molekul. Například při inhalační léčbě budesonidem dochází k omezení tvorby peroxynitritu v dýchacích cestách pacientů s astmatem. Tato skutečnost je pravděpodobně způsobena inhibicí exprese iNOS. Kortikoidy snížená produkce prozánětlivých sloučenin a omezená exprese adhezivních molekul následně vede ke snížení přílivu leukocytů z krevního oběhu do dýchacích cest a zároveň omezuje aktivaci zánětlivých buněk, které jsou již v dýchacích cestách přítomné. Oba procesy redukují množství ROS produkované těmito buňkami. Přesto může

vysoké množství ROS snižovat účinek steroidů na potlačování uvolnění cytokinů z makrofágů. Tato situace je způsobena poškozením funkční aktivity receptoru pro glukokortikoidy vlivem oxidantů. Díky těmto zjištěním je možné vysvětlit selhání kortikoidů v terapii onemocnění s vysokým oxidačním stresem v dýchacích cestách (AB, CHOPN) ⁷¹.

Vzhledem k tomu, že alergická onemocnění, jakým je např. astma, jsou multifaktoriální, nemůže pouhé blokování oxidačního stresu vést k vyřešení problému bronchokonstrikce, může však být velmi užitečnou doplňující léčbou.

⁷¹ HENRICKS, P., NIJKAMP, F. Reactive Oxygen Species as Mediators in Asthma. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* , 2001, 14, str. 409–421

C) SYNDROM DECHOVÉ TÍSNĚ DOSPĚLÝCH (ARDS)

Syndrom dechové tísně dospělých (Adult Respiratory Distress Syndrome – ARDS, šoková plíce) je forma akutní respirační insuficience, charakterizovaná závažnou hypoxemií a tvorbou nekardiálního plicního edému. Histologicky se projevuje jako difuzní alveolární postižení. Patogeneze tohoto syndromu je multifaktoriální a není dosud zcela objasněna. Klinicky se toto onemocnění manifestuje jako akutní selhání plic způsobené edémem. Na základě kvantifikace těchto patologických nálezů jsou definovány dvě klinické jednotky: akutní poškození plic (ALI-Acute Lung Injury) a syndrom dechové tísně dospělých (ARDS). Mezi společná kritéria ALI a ARDS patří rychlý nástup onemocnění, bilaterální infiltráty na RTG plic, nepřítomnost jednostranného srdečního selhání a porucha oxygenace. Oba syndromy se pak liší v úrovni poruchy oxygenace: při ALI je poměr $P_aO_2/FiO_2 \leq 300$ torr (40kPa), u ARDS je pak tento poměr ≤ 200 torr (27kPa).

ARDS vzniká z různých příčin např. při těžkém šoku, aspiraci žaludečního obsahu, při rozsáhlém poškození tkání (popáleniny), masivní infekci, traumatech, v těhotenství (kdy je tento syndrom asociován s diseminovanou intravaskulární koagulací). Dále k rozvoji ARDS dochází při anafylaxi, působením toxinů nebo jiných látek, při onemocnění CNS, uremii či při pankreatitidě. Za jednu z rozhodujících příčin alveolárního poškození v průběhu ARDS jsou považovány volné radikály^{72, 73}.

1. Epidemiologie

Po mnoho desetiletí byla incidence ARDS nepříliš jasná. V sedmdesátých letech byl výskyt ARDS odhadován na 75 případů na 100 000 obyvatel. První studie založená na populaci z roku 1992 udávala 1,5 – 4,5 případů tohoto onemocnění na 100 000 obyvatel Evropy za rok. Následující studie, které využívaly zpřesněné definice syndromu dechové tísně dospělých, udávaly 13 - 23 nemocných na 100 000 obyvatel za rok. Poslední studie se shodují na 1,5 – 13,5

⁷² ČERNÝ, V., ŽIVNÝ, P. Vliv intravenózního podávání alfa-tokoferolu na oxygenaci, hemodynamický profil a stupeň lipoperoxidace u nemocných s ARDS. Anesteziologie a neodkladná péče, 1998, č. 3, str. 100-106

⁷³ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing. 2000, str. 111-112

případech na 100 000 obyvatel za rok. Výskyt tohoto onemocnění se několikanásobně zvyšuje u pacientů napojených na mechanickou plicní ventilaci.

V dnešní době již na ARDS není pohlíženo jako na ojedinělé syndromy, ale je považován za komplexní onemocnění s rozsáhlými sociálně – ekonomickými dopady porovnatelnými s dopady asthma bronchiale, akutního infarktu myokardu, rakoviny prsu či AIDS.

Při přímém poškození plic (kyselá aspirace, pneumonie) se ARDS může rozvinout již za několik hodin po inzultu. Při celkové příčině syndromu dochází k rozvoji ARDS v průběhu 24 až 72 hodin.

Mortalita se pohybuje podle různých autorů od 30 do 85 % v závislosti na věku, závažnosti onemocnění, přidružených nemocech a dalších rizikových faktorech ⁷⁴.

2. Etiologie a patogeneze

Syndrom dechové tísně dospělých může být rozdělen na primární a sekundární. Primární ARDS je charakterizován přímým poškozením plic, např. po aspiraci kyselého žaludečního obsahu, inhalaci toxických plynů či iradiaci. Při sekundárním ARDS dochází také k poškození plic, ale toto poškození je způsobeno jiným systémovým onemocněním, např. sepsí, pankreatitidou či popáleninami.

V současné době se předpokládá, že při rozvoji ARDS jsou primárně postiženou strukturou buď alveoly (aspirace, tonutí apod.) nebo kapilární endotel (např. šok, sepse či pankreatitida). Hlavní role v patogenezi je připisována především změněné plicní cirkulaci a poruchám v regulaci zánětlivé odpovědi plic. Při porušení endoteliální membrány dochází k úniku tekutiny bohaté na bílkoviny do intersticia a alveolárního prostoru, zároveň migrují také neutrofily. Aktivované neutrofilní granulocyty a alveolární makrofágy nahromaděné v alveolárním prostoru jsou hlavními spouštěči zánětlivé reakce, na které se však podílí i další buněčné elementy (např. fibroblasty). Dochází k poškození alveolárních buněk I. i II. typu.

⁷⁴ LEWANDOWSKI, K., LEWANDOWSKI, M. Epidemiology of ARDS. *Minerva anesteziologica*, 2006, vol. 72, N. 6, str. 473-477

Pro další rozvoj patologických procesů ARDS je zvláště podstatné poškození pneumocytů II. typu, které vznikají během reparačních procesů z pneumocytů I. typu (lemují alveolus z 90 %). Právě pneumocyty II. typu jsou totiž producenty surfaktantu a řídí transport iontů (Na^+) z alveolu zpět do intersticia. Pneumocyty vystavené škodlivinám nebo aktivované bakteriálním endotoxinem či komplementem uvolňují chemotaktické faktory pro neutrofil. Nashromážděné a aktivované neutrofil jsou vydatným zdrojem superoxidu a kyseliny chlorné a tím i sekundárních ROS. Také jsou z nich uvolňovány proteolytické enzymy – elastáza a kolagenáza. Vzájemná interakce mezi volnými radikály a ostatními mediátory (cytokiny či adhezivní molekuly) vede v konečném důsledku k endoteliální destrukci, zvýšené permeabilitě v plicním mikrovaskulárním řečišti a vzniku nekardiálního edému plic. Na úrovni plicní cirkulace dochází v důsledku poškození endotelu k aktivaci komplementového systému i kalikrein-kininového systému, ke vzniku mikroatelektáz, vzestupu plicní rezistence a ve zvýšené míře je možné prokázat také metabolity kyseliny arachidonové. Redukce plicního vaskulárního řečiště vede k nepoměru ventilace a perfuze. Kombinace poruchy na alveolokapilární membráně (edém) a zmíněný nepoměr ventilace/reperfuze způsobuje poruchu oxygenační funkce plic a různý stupeň hypoxemie v závislosti na rozsahu a poškození plicního parenchymu.

U některých nemocných se permeabilita plicních kapilár poměrně rychle upraví a jemná struktura alveolů zůstane zachována. U jiných pacientů však dojde po akutní fázi k fibroproliferativní odpovědi, která může způsobit smrt pacienta. Proč k této odpovědi u některých nemocných dochází, není zatím možné přesně vysvětlit. Avšak ani výrazná fibroproliferativní odpověď nevylučuje obnovení normální plicní architektury v intervalu 12 až 24 měsíců^{75, 76}.

Během akutního stadia ARDS jsou alveoly vyplněny tekutinou obsahující erytrocyty, neutrofil, makrofágy a buněčné fragmenty. Pneumocyty I. typu jsou poškozené a endotelie zduřelé. Intersticiální edém je přítomen hlavně

⁷⁵ ŠEVČÍK, P., SKŘIČKOVÁ, J., ŠRÁMEK, V. Záněty plic v intenzivní medicíně. Praha: Galén, 2004, str. 67-69

⁷⁶ HOLUB, M. Patogeneze akutního syndromu dechové tísně (ARDS). Klinická mikrobiologie a infekční lékařství, 2003, č. 4, str. 171-176

perivaskulárně a peribronchiálně. Hyalinní membrány tvořené fibrinem a plazmatickými proteiny vyplňují alveolární dukty. V plicních kapilárách je mnoho neutrofilních leukocytů, které ve zvýšené míře migrují do plicního intersticia a později i do alveolů. Po určité době (jeden až dva týdny) lze prokázat zmnožené pneumocyty II. typu, proliferující fibroblasty, plazmatické buňky, histiocyty (buňky obsažené ve vazivu, druh makrofágu) a lymfocyty v intersticiu. V acinech je přítomná vazivová tkáň a celkové množství kolagenu je zvětšeno až trojnásobně ⁷⁷.

Tab. 7 Etiologie ARDS ⁷⁸

➤	infekční procesy
•	seps
•	difuzní zánětlivé poškození plic (viry, mykoplasmata, Pneumocystis aj.)
➤	traumata
•	poranění hlavy
•	tuková embolie (traumata tukového polštáře, zlomeniny kostí)
•	tonutí
•	popáleniny
➤	otravy
•	barbituráty
•	salicyláty
•	předávkování heroinem
➤	inhalace toxických látek
•	kouř
•	iritační páry a plyny
•	kyslík
➤	hematologické problémy
•	DIC
•	mnohočetné transfuze
➤	urémie
➤	kardiopulmonální bypass
➤	aspirace žaludečního obsahu
➤	pankreatitis
➤	alergické reakce

⁷⁷ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 111-112

⁷⁸ ŠEVČÍK, P, Skříčková, J., Šrámek, V. Záněty plic v intenzivní medicíně. Praha: Galén, 2004, str. 67-69

3. Zánětlivé změny

Průběhu a patogeneze ARDS se účastní mnoho buněčných a biochemických mediátorů, mezi které patří například interleukiny, TNF α , interferon- γ , cyklooxygenázy, oxid dusnatý, neutrofilní adhezivní molekuly, prostaglandiny, leukotrieny, aktivované neutrofily, prokoagulanty či destičkové aktivační faktory. Všechny tyto mediátory spolu interagují a komplexním způsobem se podílí na poškození a zánětu plicního mikrovaskulárního řečiště. Význam těchto mediátorů se bezpochyby liší podle etiologie ARDS (včetně rozdílu mezi primárním a sekundárním ARDS). Zánětlivé mediátory vytvářené v průběhu ARDS mohou také nepřímo zprostředkovávat tvorbu reaktivních forem kyslíku. Vysoké koncentrace TNF α a IL-1 β byly zjištěny v bronchoalveolární laváži pacientů s ARDS. Určení množství IL-6 v oběhu je používáno ke stanovení ARDS různých etiologií, např. sepse či akutní pankreatitidy ⁷⁹.

Také endogenní oxid dusnatý hraje významnou roli v rozvoji plicní dysfunkce při ARDS. U mnoha pacientů s různými zánětlivými onemocněními plic nacházíme zvýšenou koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu. Avšak u nemocných s ARDS je hodnocení koncentrace NO nalezené ve vydechovaném vzduchu komplikováno tím, že nelze určit, zda vydechovaný NO pochází primárně z plic, nebo zda se jedná o NO vytvořený extrapulmonálně (např. při sepsi). Koncentrace NO ve vydechovaném vzduchu také ovlivňuje fáze ARDS (s postupem času koncentrace NO spíše klesá) a přítomnost sepse (zvyšuje koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu). Existuje řada mechanismů, kterými může NO zasáhnout do patofyziologie ARDS. Tekutina z bronchoalveolární laváže je silným inhibitorem lipoperoxidace. Zevní povrch respiračního traktu je pokryt tenkou vrstvou vodnatého materiálu (ELF – epithelium lining fluid). Jedná se o první ochranu respiračního traktu. Obsahuje řadu antioxidantů individuálně značně rozdílné kapacity, z nichž se jako nejdůležitější jeví kyselina močová (50 -200 $\mu\text{mol/l}$), kyselina askorbová (50 – 200 $\mu\text{mol/l}$) a GSH (30 – 400 $\mu\text{mol/l}$). V malé míře se zde vyskytuje také vitamin E (1 – 50 $\mu\text{mol/l}$). NO může porušovat

přirozenou funkci bariéry např. tak, že zvýšením oxidačního stresu podpoří lipoperoxidaci. Za fyziologických podmínek probíhá oxidace protonů přes mitochondriální cytochromový systém a pouze 1 až 2 % jednoelektronovou redukcí. Naproti tomu, u těžkých stavů, jakým je ARDS, většinou probíhá redukce přes volné radikály ⁸⁰. NO také poškozuje (nitrací tyrosinu) významné proteiny plazmy, jako jsou např. ceruloplazmin (dochází ke snížení jeho feroxidázové aktivity), transferin, inhibitor α_1 -proteázy (snižuje se schopnost inhibovat elastázu), α_1 -antichymotrypsin či β -řetězec fibrinogenu. U pacientů se syndromem dechové tísně dospělých nacházíme v bronchoalveolární lavážní tekutině zvýšené množství nitrátů a nitrotyrosinu. Také alveolární makrofágy nemocných s ARDS obsahují nitrotyrosin a iNOS, což dokazuje významnou úlohu NO v patofyziologii ARDS ⁸¹.

Zánět způsobuje endoteliální dysfunkci, pronikání tekutiny z kapilár a zhoršení odstraňování tekutiny z plic. Porušená funkce pneumocytů typu II. vyvolává pokles tvorby surfaktantu, který snižováním povrchového napětí brání smrštění sklípků a následnému kolapsu plic. V další fázi způsobuje endoteliální dysfunkce vstup buněčného a zánětlivého exudátu do alveolů. Vzniká pulmonální edém, který zvyšuje velikost alveolo-kapilárního prostoru a tím zvětšuje vzdálenost, kterou musí kyslík difundovat, aby se dostal z plic do krve. Snižuje se velikost výměny plynů, což zvyšuje námahu při dýchání, vede k hypoxii a nakonec způsobuje fibrózu dýchacích cest. Edém a pokles tvorby surfaktantu v pneumocytech II. typu mohou způsobit zahlcení nebo úplný kolaps alveolů. Alveoly jsou stále méně plněny plynem, jsou mnohem více prokrveny, ale tato krev není okysličována, což vyústí v masivní intrapulmonální zavodnění.

4. Role oxidačního stresu

Účast reaktivních forem kyslíku v patogenezi ARDS dokazují nálezy v bronchoalveolární lavážní tekutině, ve které prokazujeme zmnožení neutrofilů (až 90 % buněk v diferenciálním rozpočtu), zvýšené množství ROS a produktů

⁷⁹ MACINTYRE, N. The Mechanics of ARDS. [cit. 21.3.2009]. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.medscape.com/viewarticle/514525>>

⁸⁰ RACEK, J., NOVÁK, I., HOLEČEK, V., ŠRÁMEK, V. Oxid dusnatý – jeho metabolismus a význam pro organismus. Anesteziologie a neodkladná péče, 1999, č. 4, str. 169-173

oxidačního poškození a vyšší hladinu proteinů. Nejvýznamnějším podnětem vedoucím k migraci neutrofilů z plicních kapilár do intersticia a alveolů je IL-8.

Vydechovaný vzduch a moč nemocných s ARDS obsahují zvýšené množství peroxidu vodíku. U intubovaných nemocných se syndromem dechové tísně dospělých je toto zvýšení H_2O_2 ve vydechovaném vzduchu až pětinasobné než u jiných intubovaných nemocných bez ARDS ⁸². V oběhu nemocných s ARDS se nachází vysoké množství 4-hydroxy-2,3-*trans*-nonenal (4-HNE). V bronchoalveolární lavážní tekutině (BALT) byl zjištěn nefunkční α_1 -antitrypsin, což je důsledkem oxidace methioninu v aktivním místě této bílkoviny. V BALT byla také prokázána zvýšená aktivita myeloperoxidázy (MPO), která je schopna indukovat vznik kyseliny chlorné. Oxidanty se uvolňují i z četných neutrofilů v alveolárních prostorech. Rovněž alveolární koncentrace glutathionu je snížena. Přítok sérových antioxidačních proteinů, ke kterému dochází při plicním edému, však může ochránit plíce před dalším poškozováním volnými radikály ⁸³.

Dalším významným prooxidantem je železo, které způsobuje oxidační stres svou schopností katalyzovat reakce vedoucí ke vzniku ROS. U pacientů s ARDS má plazma sníženou schopnost vázat železo. V plicních biopsiích pacientů s ARDS se také nachází zvýšené množství proteinových receptorů vázajících transferin, což je přímý důsledek působení železa.

Antioxidační ochranný systém je také poškozen. Se zvyšujícím se množstvím ROS dochází ke snižování hladin antioxidačních enzymů (superoxiddismutázy, katalázy aj.) a dalších antioxidantů (glutathionu, vitaminů E a C a dalších).

ROS se na vzniku ARDS mohou podílet přímo (reakce peroxidu vodíku, superoxidového radikálu, peroxynitritu a dalších), ale mohou k němu také přispívat nepřímo - inaktivací antiproteáz a vyčerpáním antioxidantů. Jako odpověď na oxidační stres dochází k transkripční aktivaci některých genů, což může ovlivnit cytokiny, jako např. IL-1 a $TNF\alpha$, které jsou produkovány mnoha buňkami vystavenými ROS. Dochází také ke zvýšené produkci antioxidačních

⁸¹ RICCIARDOLO, F., DI STEFANO, A., SABATINI, F., FOLKERTS, G. Reactive nitrogen species in the respiratory tract. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 533, str. 240–252

⁸² ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 111-112

⁸³ PEŠEK, M., RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály a onemocnění plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 1999, 59, č. 5, str. 211-215

genů. Cytokiny hrají komplexní roli v poškození tkáně způsobené volnými radikály, mohou narušit rovnováhu mezi oxidanty a antioxidanty, aktivují zánětlivé buňky a ovlivňují také činnost antioxidantů.

Ke vzniku ROS dochází v zánětlivých buňkách lokalizovaných jak v dýchacích cestách, tak v oběhu (neutrofily, fagocyty či granulocyty). Dále se produkce ROS zvyšuje následkem působení endotoxinu. Bylo dokázáno, že endotoxin zesiluje tvorbu ROS v neutrofilech stimulací monocytů, aktivací komplementu a dalšími negativními účinky na endoteliální buňky. Mezi jiné příčiny vzniku ROS patří také reperfuze tkáně po předchozí ischemii. V průběhu ischemie dochází k vyčerpání adenosintrifosfátu (ATP) a přerušení činnosti Na/Ca pumpy, což způsobí influx vápníku, který aktivuje proteázy schopné poškodit cytoskeleton a indukovat ireverzibilní transformaci xanthindehydrogenázy na xanthinoxidázu (enzym podílející se na konečných reakcích katabolismu purinů). Hromadění vápníku také souvisí s inhibicí přenosu elektronů v mitochondriích a se zvýšenou tvorbou peroxidu vodíku.

Vznik ROS může být také negativním důsledkem terapeutického použití kyslíku nebo působení některých chemických látek, např. paraquatu či bleomycinu. Pokud je kyslík do plic dodáván ve vyšších koncentracích než je běžná koncentrace za normálního atmosférického tlaku, dochází k poškození plic a vývoji plicní hypertenze. Vysoké koncentrace vdechovaného O_2 vedou k zesílení produkce superoxidového radikálu a peroxidu vodíku v plicích. K této nadměrné produkci ROS dochází pravděpodobně v mitochondriích lokalizovaných v plicích. Často používaný herbicid paraquat je vysoce toxický pro plicní tkáň a způsobuje těžký ARDS. Po jednoelektronové redukci za nepřítomnosti kyslíku z něj vzniká stabilní radikál. Paraquatový radikál pak reaguje s O_2 , což vede ke vzniku superoxidového radikálu. Tento cyklus pokračuje, dokud je přítomen zdroj kyslíku a elektronů. Dalším xenobiotikem, které může vyvolat ARDS, je bleomycin. Toto glykopeptidové protinádorové antibiotikum je zvláště toxické pro plicní tkáň, která má pouze omezenou schopnost tuto látku odstraňovat. Když byl bleomycin intratracheálně podán zvířecímu modelu, došlo rychle k rozvoji ARDS⁸⁴.

⁸⁴ CHABOT, F., MITCHELL, J. A., GUTTERIDGE, J. M. C., EVANS, T. W. Reactive oxygen species in acute lung injury. *European Respiratory Journal*, 1998, 11, str. 745–757

Bylo tedy prokázáno, že volné radikály hrají významnou roli v poškození hladkých dýchacích svalů a endotelu pulmonálních cév, což je považováno za původ následných klinických manifestací ARDS ⁸⁵.

5. Využití antioxidantů v terapii ARDS

Rozvoje syndromu dechové tísně dospělých se účastní mnoho různých mediátorů, které vzájemně velmi komplexním způsobem interagují. Není tedy překvapující, že specifická „antimediátorová“ terapie, která účinkuje v případě ARDS jedné etiologie, může být zcela neúčinná v případě ARDS jiné etiologie. Časová posloupnost uvolňování mediátorů se navíc také mění podle etiologie ARDS, a proto je při podávání látek určených k blokování negativních účinků mediátorů podstatné načasování. Tato různorodost mediátorové odpovědi organismu v průběhu ARDS může vysvětlit fakt, že slibné látky (např. kortikosteroidy, ibuprofen, N-acetylcystein, lisofyllin, prostaglandin E, anti-TNF α , antagonist receptoru pro IL-1 nebo ketokonazol) při aplikaci na specifických zvířecích modelech ARDS nesplnily očekávání a nepřinesly užitek ⁸⁶.

Také farmakologické použití antioxidantů (např. katalázy nebo superoxiddismutázy) se u lidí neosvědčilo, ačkoli při aplikaci na zvířecích modelech bylo dosaženo pozitivního protektivního účinku.

V terapii ARDS byl pro své vazodilatační účinky zkoušen také oxid dusnatý. V multicentrických studiích však nebyla prokázána účinnost této látky. Naopak v jedné studii byla aplikace NO spojena s vyšší incidencí renálního selhání ⁸⁷.

⁸⁵ CIENCEWICKI, J., TRIVEDI, S., KLEEBERGER, S. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. *Journal of allergy and clinical immunology*, 2008, vol. 122, No. 3, str. 456-468

⁸⁶ MACINTYRE, N. The Mechanics of ARDS. [cit. 23.3.2009]. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.medscape.com/viewarticle/514525>>

⁸⁷ CHABOT, F., MITCHELL, J. A., GUTTERIDGE, J. M. C., EVANS, T. W. Reactive oxygen species in acute lung Injury. *European Respiratory Journal*, 1998, 11, str. 745-757

D) RAKOVINA PLIC

Termínem rakovina plic (bronchogenní karcinom) označujeme jak nádory průdušek, tak i nádory, které vznikají v plicním parenchymu. Klinický obraz těchto dvou jednotek je velmi podobný, proto je od sebe nelze přesně oddělit. Nádory průdušek (s původem v primárních a segmentálních bronších, méně často v malých bronchiolech) později obvykle prorůstají do plicního parenchymu, či průdušku, ve které vznikly, uzavírají, což vede k následným změnám v plicním parenchymu. A naopak nádory, které se původně vytvořily v plicním parenchymu, později často prorůstají do průdušek.

Většinu nádorů plic (až 90 %) můžeme rozdělit podle biologického chování, histologického složení a podle lokalizace do některé ze čtyř skupin:

- epidermoidní nebo dlaždicový karcinom (40-45 %), který má centrální charakter a vyskytuje se hlavně u mužů
- adenokarcinom (15-20 %), který je lokalizován spíše periferně
- malobuněčný karcinom (Small Cell Lung Cancer - SCLC; 25 %), vyznačují se rychlým růstem a výrazným sklonem k časnému metastazování do kostí, jater, centrálního nervového systému a nadledvin
- nemalobuněčný karcinom (Non Small Cell Lung Cancer – NSCLC; 10 %), který se vyskytuje centrálně i periferně, stejně jako malobuněčný karcinom.

Tyto skupiny se od sebe vzájemně odlišují svými vlastnostmi, prognózou i způsobem léčby.

Klinické projevy rakoviny plic jsou zpočátku málo specifické (vyskytují se i u jiných onemocnění plic - CHOPN, AB, chronická bronchitida aj.), ale vždy znamenají již relativně pokročilý karcinom. Varovné signály, které by umožnily včasné zachycení této choroby, neexistují. Pro přehlednost můžeme příznaky onemocnění plicním karcinomem rozdělit do tří skupin:

- lokální plicní příznaky – trvalejší dráždivý kašel, který se vyskytuje u 80 % nemocných s touto diagnózou; někdy vykašlávání malého množství krve – hemoptýza; pneumonie nereagující na léčbu antibiotiky; bolest, která je často vázaná na kašel a nádech; chrapot; dušnost; syndrom horní duté žíly, který se projevuje nejprve distenzí krčních žil a následným otokem obličeje a krku s cyanózou; stenóza jícnu a s tím spojené polykací obtíže

- mimoplicní metastatické příznaky – jsou vždy projevem rozsáhlého onemocnění; nejnápadnější příznaky vyvolávají metastázy do mozku (neurologické či psychické poruchy), kostí (bolesti, patologické fraktury) a do kostní dřeně (anémie)
- paraneoplastické syndromy – jsou vzdálenými projevy, které nejsou přímo způsobeny invazí primárního tumoru nebo metastáz, ale tvoří heterogenní skupinu příznaků a projevů sdruženou s maligním nádorem; vyskytují se u 10-20 % nemocných; jedná se o specifické metabolické (hubnutí), hematologické, kardiovaskulární, endokrinologické, kožní a neuromuskulární projevy; jsou zřejmě reakcí organismu na produkci biologicky aktivních proteinů nebo polypeptidů a hormonů ⁸⁸.

1. Epidemiologie

V první čtvrtině 20. století byla rakovina plic velmi vzácným onemocněním. Zlom nastal až ve dvacátých letech, kdy se prudce rozšířil nový uživatelský produkt: cigarety. Již ve třicátých letech začaly být podávány první důkazy o souvislosti mezi výskytem rakoviny plic a kouřením cigaret. Tento závěr byl definitivně potvrzen několika rozsáhlými studiemi v padesátých letech. Teprve o dvacet let později se však informace o škodlivosti kouření dostaly k široké veřejnosti a na krabičky cigaret. Přesto během posledních padesáti let vzrostla incidence tohoto onemocnění až patnáctkrát.

V dnešní době je plicní karcinom v České republice (i v průmyslových zemích světa) nejčastějším nádorovým onemocněním. Výskyt plicní rakoviny se pohybuje kolem 60 případů na 100 000 obyvatel v ČR (rok 2005). Vyšší prevalence tohoto onemocnění je u mužů (93/100 tisíc), u kterých tvoří téměř čtvrtinu (22 %) všech nádorových onemocnění. Na toto onemocnění u nás zemře každý dvanáctý muž. U žen se rakovina plic vyskytuje méně často, tvoří zhruba 5 % všech nádorových onemocnění. V posledních letech se však výskyt bronchogenního karcinomu u žen prudce zvyšuje. V ČR evidujeme 30 případů tohoto onemocnění na 100 000 žen. Zároveň klesá průměrný věk pacientů trpících tímto onemocněním. Bronchogenní karcinom bývá obvykle

⁸⁸ BABIČKOVÁ, L., SKŘIČKOVÁ, J. Bronchogenní karcinom. Onkologická péče, 2008, 12, č. 4, str. 2-4

diagnostikován ve věku 35 až 85 let, nejčastější výskyt je mezi 55. až 80. rokem života. Mortalita se u obou pohlaví blíží incidenci a pohybuje se kolem 93 % u mužů a téměř 98 % u žen. Podílí se na tom charakter onemocnění a pozdní diagnóza. S pozdě rozpoznanou nemocí přichází 90 % českých pacientů. Prevence je stále nedostatečná^{89, 90}.

2. Etiologie a patogeneze

Rakovina plic je nádorem etiologicky spjatým s kuřáctvím, zejména cigaret. Kromě tohoto hlavního rizikového faktoru se uplatňuje také vliv výživy, konkrétně nerovnováha mezi nadměrným příjmem tuků, jejichž metabolismem je vyvolán oxidační stres, a nedostačujícím přívodem zdrojů antioxidantů. V posledních letech se opakovaně potvrzuje vliv konzumace piva na zvýšení rizika výskytu rakoviny plic. Publikované studie o příspěvku pasivního kouření k výskytu rakoviny plic sice nemají jednotné závěry, bylo však prokázáno, že u pasivních kuřáků je vyšší aktivita enzymů, které jsou projevem reakce organismu na nadměrnou oxidativní zátěž. Dalšími exogenními faktory, které se podílí na vzniku tohoto onemocnění, jsou např. viry, ionizující záření, chemické karcinogeny (azbest – součást stavebních a izolačních materiálů, radon – ve zvýšené míře se vyskytuje asi ve 2 % domů v ČR, rtuť, nikl, chrom, arzén, chlorované uhlovodíky, polycyklické aromatické uhlovodíky, nitrosoaminy) či profesionální expozice (horníci v uranových dolech).

Kromě exogenních faktorů již byly potvrzeny také některé vrozené (genetické) podklady náchylnosti k rakovině plic. Jedná se o odchylky funkce enzymů, které kancerogeny buď aktivují (např. zvýšená aktivita isoenzymů P450-CYP 1A1 a CYP 2D6), nebo je zneškodňují (glutathion-S-transferáza). Jsou však známy i další, neméně důležité faktory, např. snížená aktivita buněčných mechanismů opravujících DNA či zvýšený výskyt mutované formy genu p53 lokalizovaného na 17. chromozomu. Tento gen je odpovědný za stabilitu

⁸⁹ FIALA, J. Rakovina: Epidemiologie, etiologie, prevence. [cit. 27.3.2009]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.med.muni.cz/~mpesl/trafficjam/Preventivni/P_edn_ka_n_dory%5B1%5D.19.9.05.pps>

⁹⁰ BABIČKOVÁ, L., SKŘIČKOVÁ, J. Bronchogenní karcinom. Onkologická péče, 2008, 12, č. 4, str. 2-4

genetické informace v buňce a jeho mutace je přítomna u 63 % případů vzorků tkáně plicní rakoviny. U zdravých osob je to pouze ve 2 % případů.

Působením výše zmíněných faktorů může být spuštěna kancerogeneze. V celé sliznici dýchacího traktu dlouhodobě vystaveného látce způsobující rakovinu (především cigaretovému kouři) dochází ke genetickým změnám, na jejichž podkladě vznikají nejdříve ostrůvky přednádorových buněk a následně buněk zhoubného nádoru. Pro růst již vzniklých nádorových buněk má značný význam stav imunitního systému jedince a kvalita imunitní odpovědi a rovněž stupeň angiogeneze, tedy rychlost prorůstání cév do nádoru. Bez cévního zásobení nemůže nádor vyrůst více než na velikost 1mm³⁹¹.

3. Zánětlivé změny

Chronická expozice redox–aktivním škodlivinám, jakými jsou např. azbest, ozón, cigaretový kouř nebo ionty kovů, vede k influxu zánětlivých buněk do plic, kde následně stoupá produkce ROS. Vzniká chronický zánět průduškové sliznice, který napomáhá vzniku nádorových změn tím, že způsobuje rychlejší růst buněk v oblasti, kterou postihuje. Klíčovým projevem zánětlivé reakce jsou aktivované makrofágy. Makrofágy stimulující protein (MSP) zvyšují produkci superoxidu, uvolňování cytokinů IL-1, IL-10, TNF α a aktivaci NF- κ B.

Aktivace důležitého transkripčního faktoru NF- κ B hraje kritickou roli v zánětlivé reakci a imunitní odpovědi organismu, stejně jako v aktivaci onkogenů, receptorů pro cytokiny, adhezivních molekul a růstových faktorů. Tento transkripční faktor je také zapojen do regulace produkce TNF α . NF- κ B je aktivován ROS, cytokiny, viry, aktivátory proteinkinázy C či imunologickými podněty. Naopak antioxidanty jako N-acetylcystein nebo pyrrolidin dithiokarbamát jeho aktivaci inhibují⁹².

⁹¹ VOTRUBA, J. Rakovina plic. [cit. 3.4.2009]. Dostupné na World Wide Web: www.lpr.cz/download/publikace/plic.doc

⁹² VALLYATHAN, V., SHI, X., CASTRANOVA, V. Reactive Oxygen Species: Their Relation to Pneumoconiosis and Carcinogenesis. Environmental Health Perspectives, 1998, Vol 106, Supplement 5, str. 1151-1155

4. Role oxidačního stresu

Volné radikály a ROS obecně poškozují zvláště lipoproteiny buněčných membrán lipoperoxidací a jejich chování se odvozuje podle vývojového stádia nádoru. Při lipoperoxidaci vzniká řada kancerogenních aldehydů, např. malondialdehyd, 4-hydroxynonenal, hexanal a další. Bílkoviny jsou působením ROS poškozovány stejným způsobem jako lipoproteiny. Oxidované bílkoviny jsou štěpeny proteázami, ale některé z oxidovaných derivátů (např. deriváty tryptofanu), jsou kancerogenní. Oxidačnímu poškození může podlehnout také DNA, konkrétně její dusíkaté báze (např. vznik 8-oxo-7,8-dihydroguaninu či 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosinu). Organismus je sice vybaven mechanismem zajišťujícím rychlé odstranění poškozených bází a jejich výměnu za nepoškozené, ale přesto může dojít k replikaci ještě před odstraněním porušené báze. V takovém případě vzniká mutace a zvyšuje se riziko karcinogeneze. Bylo prokázáno, že ROS způsobují v buňkách bodové mutace a chromozomální aberace.

Reaktivní formy kyslíku jsou v plicích vytvářeny mnoha různými mechanismy jako odpověď na inhalaci toxických polutantů, které přispívají k oxidativním modifikacím a poškozují důležité komponenty cytoplazmy a jádra. Tyto změny mohou zahrnovat ROS navozené zlomy DNA, oxidativní modifikaci DNA či bází, změny v sekvencích, poly-ADP-ribosylaci, aktivaci kináz a protoonkogenů či inaktivaci tumor supresorových genů⁹³.

Nádorové buňky rovněž produkují reaktivní kyslíkové radikály, což v určitých případech vede ke snížení hladiny některých antioxidantů v nádorových buňkách. Téměř u všech typů karcinomu plic je signifikantně snížena koncentrace katalázy a glutathionperoxidázy, takže není možné zajistit účinné odstraňování peroxidu vodíku. Existují však i nádory, u kterých dochází naopak ke zvýšení aktivity antioxidantních enzymů. Lze konstatovat, že každý typ nádoru má aktivitu těchto enzymů ve srovnání se zdravými tkáněmi odlišnou.

⁹³ VALLYATHAN, V., SHI, X., CASTRANOVA, V. Reactive Oxygen Species: Their Relation to Pneumoconiosis and Carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 1998, Vol 106, Supplement 5, str. 1151-1155

Karcinomy jsou tedy provázeny oxidačním stresem, který zvyšuje počet mutací⁹⁴.

ROS se účastní celého procesu karcinogeneze. Jejich chování závisí na fázi tohoto patologického procesu. Průběh vzniku karcinomu je velmi komplikovaný, mnohostupňový a může trvat i polovinu života. Obvykle je rozdělován na iniciaci, promoci, progresi a invazivní fázi. V průběhu iniciace se uplatňuje karcinogen (fyzikální, chemický či biologický), který způsobí poškození genetického materiálu. Toto poškození mění zdravou buňku na iniciovanou (pokud buňka své poškození neopraví). Tyto buňky jsou „ve spícím stavu“, buď vůbec nerostou, nebo rostou velmi pomalu. Antioxidanty, např. vitamin E, mohou snížit tvorbu těchto iniciovaných buněk. Ve stadiu promoci se iniciované buňky mění účinkem nádorových promotorů na buňky preneoplastické. Promotory mohou bránit buněčné diferenciaci. Jako promotory se uplatňují reaktivní formy kyslíku (mají význam při aktivaci buněk), ale také růstové faktory. Ve stáří, kdy se zvyšuje produkce volných radikálů a zároveň snižuje antioxidační kapacita tkání, snáze dochází k iniciaci nádorového bujení. Navíc kancerogeny působí na promotory, což vede k zánětu a vzniku dalších volných radikálů. Hromadění a rozpad makrofágů při zánětu dále zvyšuje koncentraci VR. Rovněž metabolity kyseliny arachidonové přispívají ke vzniku tumoru. Původní iniciované buňky začínají růst, což v tomto stadiu vede k malignitě. Dochází k amplifikaci a translokaci buněčného onkogenu a může rovněž dojít ke ztrátě represorového genu. Ve fázi promoci se jako velmi významné jeví podávání antioxidantů, které působí právě proti transformaci. Konečným stupněm ve vzniku neoplastické buňky je progresi. V této fázi je hlavním cílem buněk replikace. Ukazuje se, že starý organismus (nízká antioxidační kapacita, vysoká lipoperoxidace) negativně ovlivňuje růst nádoru. Poslední (invazivní) fáze je výsledkem genové mutace, která může být zodpovědná za syntézu proteáz usnadňujících diseminaci tumoru krevní i lymfatickou cestou. Vznik nádorových metastáz podporuje hydroxyurea, která rovněž zvyšuje rezistenci nádorových buněk vůči peroxidu vodíku. Tento účinek je závislý na nejsilnějším buněčném antioxidantu – glutathionu.

⁹⁴ PEŠEK, M., RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály v patogeneze terapii karcinomu plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 2000, 60, č. 3, str. 99-103

Buthioninsulfoximin, který je specifickým inhibitorem γ -glutamylcysteinylsyntázy, což je klíčový enzym při syntéze glutathionu, v pokusech na zvířatech téměř úplně zabránil vzniku metastáz.

Významnou molekulou, která má vliv na rozvoj rakoviny plic, je oxid dusnatý. NO má charakter volného radikálu a produkuje mnoho reaktivních meziproduktů. Stálá indukce iNOS v průběhu chronického zánětu může mít mutagenní a později i karcinogenní následky kvůli poškození DNA (deaminace bází či jejich záměna: G:C→C:G), nebo zamezení její reparace (inaktivace proteinů, které DNA opravují, např. alkyltransferáza, DNA lipáza). Zvýšená exprese iNOS je přímo spojena s mutací tumor supresorového proteinu p53 u nádoru plic. Oxid dusnatý může rovněž stimulovat růst nádoru a tvorbu metastáz tím, že u nádorových buněk podporuje migraci, invazivitu a angiogenezi. NO také stimuluje cyklooxygenázu-2 (COX-2), která produkuje značné množství prostanoidů a podporuje tak progresivní fázi karcinogeneze. Na druhou stranu však bylo objeveno množství NOS proteinů a NOS enzymů, které snižují přeměnu např. mukózy tlustého střeva v polypy a následně v karcinom. Navíc nádorové buňky pozměněné iNOS genem mohou ničit okolní nádorové buňky prostřednictvím antitumorové cytotoxicity zprostředkované oxidem dusnatým. Zdá se, že pro vznik senzitivity či rezistence nádorových buněk vůči NO je nejdůležitější genetická stavba těchto buněk a koncentrace NO při jejich vzniku a v jejich bezprostředním okolí ⁹⁵.

Dalším faktorem, který hraje v karcinogenezi významnou roli, je transkripční faktor AP-1. Reguluje protoonkogeny (c-jun a c-fos) a má klíčový význam v indukcii genů pro růstové faktory. Do jeho aktivace jsou rovněž zapojeny ROS, avšak přesný mechanismus této aktivace je zatím předmětem výzkumu ⁹⁶.

Jako ukazatel oxidačního stresu postihujícího celý organismus slouží měření vylučování 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosinu (8-oxodG) nebo 8-oxo-7,8-dihydroguaninu (8-oxoGua) močí. Bylo dokázáno, že zvýšená exkrece

⁹⁵ LALA, P. K., CHAKRABORTY, CH. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. The Lancet Oncology, March 2001, Vol. 2, str. 149-156

⁹⁶ VALLYATHAN, V., SHI, X., CASTRANOVA, V. Reactive Oxygen Species: Their Relation to Pneumoconiosis and Carcinogenesis. Environmental Health Perspectives, 1998, Vol 106, Supplement 5, str. 1151-1155

8-oxodG močí představuje větší riziko vzniku rakoviny plic u nekuřáků a je zároveň důkazem, že zvýšení zátěže organismu oxidačním stresem zvyšuje riziko rozvoje rakoviny plic⁹⁷.

5. Využití antioxidantů v terapii rakoviny plic

Přestože byl vliv ROS na vznik a vývoj rakoviny plic spolehlivě prokázán, nelze podávání antioxidantů jednoznačně doporučit. Působení ROS v patologii bronchogenního karcinomu je komplexní a liší se podle fáze karcinogeneze. Z tohoto faktu vyplývá, že rovněž přístup k preventivnímu a terapeutickému podávání antioxidantů by měl být individuální a zaměřen na fázi karcinogeneze, ve které se pacient nachází. Preventivní podávání antioxidantů se doporučuje ve fázi iniciace, kdy např. vitamin E snižuje tvorbu iniciovaných buněk, nebo ve fázi promoce, kdy AO působí proti transformaci iniciované buňky na buňku preneoplastickou. Naopak ve fázi progresu není podávání antioxidantů vhodné, protože by mohlo dojít ke zvýšení rezistence nádoru vůči léčbě, ke které jsou používány volné radikály (X-paprsky, adriamycin, cis-platina). Jako terapeuticky vhodné se v tomto případě jeví podávání vícenenasycených mastných kyselin (PUFA). Nádorová buňka totiž obsahuje v membránách velmi málo PUFA, navíc je vybavena značným množstvím antioxidantů, které ji chrání před lipoperoxidací (způsobené volnými radikály užívanými při terapii či uvolňovanými z T-lymfocytů). Lipoperoxidace podporovaná podáváním nadbytku PUFA poškozuje buněčné membrány, což v této fázi může vést i k regresi nádoru. Naopak vitamin E lipoperoxidaci snižuje a jeho vysoký příjem růst nádoru naopak urychluje.

Obecně lze konstatovat, že nedostatek karotenoidů zvyšuje riziko vzniku rakoviny plic. Také byl prokázán pozitivní vliv suplementace selenem, kdy u pacientů s bronchogenním karcinomem došlo ke snížení mortality.

Analýza bronchoalveolárních laváží ukázala zvýšené hodnoty glutathionu u chronických kuřáků a ještě vyšší u nemocných s karcinomem plic. Vysoké hladiny glutathionu a GSHPx vyvolávají rezistenci nádorových buněk vůči

⁹⁷ MILLER, P., FOLKMANN, J. K., FORCHHAMMER, L., BRÄUNER, E. V., DANIELSEN, P. H., RISOM, L., LOFT, S. Air pollution, oxidative damage to DNA, and carcinogenesis. *Cancer Letters* 266, 2008, str. 84–97

peroxidu vodíku. Inhibice GSHPx tedy zvyšuje toxicitu peroxidů vůči nádorovým buňkám.

Při terapii nádorů volnými radikály dochází nevyhnutelně k zániku mnoha zdravých buněk. Z odpadních produktů následně vznikají další volné radikály, např. z purinových bází se tvoří kyselina močová, při jejíž syntéze vzniká superoxid. Volné radikály pak poškozují i zdravé tkáně, což do jisté míry limituje kancerostatickou terapii. Suplementace antioxidanty by tedy po léčbě volnými radikály měla mít značný význam. Bohužel však tato terapie není dosud vypracována kvůli obavě z rizika, že nádorové buňky, které terapeutický zásah přežily, by byly antioxidanty chráněny. Přesto se objevily studie, ve kterých vysoké dávky antioxidantů prodloužily přežívání nemocných s malobuněčným karcinomem plic. Například ethiol (amifostin, WR-2721), pokud byl přidán ke kombinaci vinblastin – cisplatina, zvyšoval frekvenci léčebných odpovědí na chemoterapii a zároveň působil protektivně proti poškození zdravých tkání. U pacientů léčených tímto způsobem bylo dosaženo i významného prodloužení života. Dexrazosan (cardioxan, ICRF-187) je dalším příkladem látky, která brání tvorbě volných radikálů a při chemoterapii antracykliny působí protektivně na myokard.

Normální zdravé buňky jsou ve tkáni navzájem propojeny komunikačními kanálky v jejich membráně, které kontrolují růst. Iniciované buňky nepřijímají od zdravých buněk kontrolní růstové signály a tento pokles komunikace podporuje vznik karcinomu plic účinkem růstového (nádorového) promotoru. Ale např. β -karoten má schopnost obnovit růstové kontrolní signály mezi zdravou buňkou a buňkou iniciovanou. Tímto způsobem tedy dochází k blokádě vzniku prekancerózních buněk. Nicméně použití některých antioxidantů při pokusech o chemoprevenci rakoviny plic nemá zatím přesvědčivé výsledky, které by uvedené předpoklady potvrzovaly. Některé studie dokonce dokládají zvýšený výskyt nádorů plic u pacientů léčených β -karotenem a retinolem⁹⁸.

⁹⁸ PEŠEK, M., RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály v patogeneze terapii karcinomu plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 2000, 60, č. 3, str. 99-103

E) IDIOPATICKÁ PLICNÍ FIBRÓZA (IPF)

Idiopatická plicní fibróza (dříve označovaná jako kryptogenní fibrotizující alveolitida) je nejzávažnějším reprezentantem intersticiálních idiopatických pneumonií. Je charakterizována postupným a nezvratným procesem fibroproliferace v plicní tkáni, který je výsledkem patologicky vystupňovaného hojení lézí alveolárního epitelu. V celém procesu hraje významnou roli řada cytokinů a chemokinů, které převážně spadají do T_H2 spektra. Typickými znaky tohoto onemocnění jsou postupující námahová a později i klidová dyspnoe, difuzní infiltráty v intersticiu, progresivní plicní fibróza, zvýšené množství granulocytů v bronchoalveolární lavážní tekutině, postupný pokles funkčních parametrů a velmi špatná prognóza. Patologické projevy IPF se mění podle věku a aktivity pacienta. Zánětlivé změny se u této nemoci objevují v menší míře.

Lokální zóny proliferace fibroblastů se nazývají fibroblastová ohniska a vytváří se v místě nedávného alveolárního poškození. Biochemický mechanismus patogeneze IPF je stále velmi málo objasněn, a proto léčba nabízí pouze malou, pokud vůbec nějakou, ochranu proti progresi tohoto onemocnění.

Klinicky se toto onemocnění projevuje již zmíněnou námahovou a později i klidovou dušností, dále snadnou unavitelností a v pozdějších fázích při nastupující hypoxemii i cyanózou. U 75 % pacientů se vyskytují fenotypové projevy, jako jsou paličkovité prsty s nehty tvaru hodinového sklíčka.

I když je pro IPF typický pozvolný a plíživý nástup dušnosti s pomalu progredujícím zhoršováním, objevují se u některých pacientů epizody tzv. akutní exacerbace IPF, při kterých dochází k náhlému klinickému zhoršení s poklesem plicních funkcí.

1. Epidemiologie

V dnešní době postihuje idiopatická plicní fibróza asi pět milionů lidí na celém světě. Prevalence je celosvětově odhadována na 13 až 20 případů na 100 000 obyvatel a incidence na 7-11/100 000. Kvůli předpokládané „poddiagnostikovanosti“ však mohou být tyto údaje i vyšší. IPF se vyskytuje s vyšší pravděpodobností u mužů než u žen. Nejčastěji je toto onemocnění diagnostikováno u pacientů ve věku 40 až 70 let, přičemž dvě třetiny nemocných jsou starší šedesáti let. Je tedy patrné, že incidence IPF stoupá s věkem.

Nebylo prokázáno, že by IPF postihovala výrazněji některou rasu či etnitu nebo obyvatele města či vesnice. Toto onemocnění se vyskytuje celosvětově se stejnou prevalencí. Nicméně mortalita korelující s věkem se zdá být vyšší u kavkazoidní populace než u populací v Africe.

Idiopatická plicní fibróza má velmi špatnou prognózu. Střední doba přežití je navzdory léčbě pouze tři až pět let. Nemocní jsou navíc vzhledem k doživotnímu užívání imunosupresiv ohroženi vedlejšími účinky, je např. zvýšené riziko osteoporózy, sekundární diabetes mellitus či oportunní infekce. U těchto pacientů je také ve zvýšené míře pozorován bronchogenní karcinom^{99, 100}.

2. Etiologie a patogeneze

Etiopatogeneze IPF zatím není zcela objasněna, jak naznačuje i název tohoto onemocnění. Ze současných poznatků vyplývá, že na poškození alveolárního epitelu (následovaného abnormálními reparativními procesy) se podílí jak vnitřní, tak i vnější podněty. Byly rozpoznány některé iniciační faktory, které zahrnují mimo jiné např. polutanty z pracovního (prach obsahující ocel, olovo, mosaz či částice z borovicového dřeva) i životního prostředí, cigaretový kouř či virové infekce (EBV, chřipkový virus, CMV, virus hepatitidy C, virus parainfluenzy, HIV-1, herpesvirus 6, virus spalniček či mykoplasma). Navíc případy vícenásobného výskytu IPF v rámci rodiny ukazují, že na rozvoji této nemoci se podílí také genetické faktory. Kvůli složitosti a komplexnosti IPF však zatím všechny faktory identifikovány nebyly. V patogenezi IPF se uplatňují také volné radikály.

Na základě studií genové exprese ve vzorcích plicní tkáně pacientů s IPF byla zjištěna zvýšená exprese čtyř skupin genů. První skupinou se zvýšenou expresí je skupina genů pro kontraktilní proteiny – aktin, myosin a tropomyosin. Další zvýšeně exprimovanou skupinou genů je skupina genů pro signální

⁹⁹ KINNULA, V. L., FATTMAN, CH. L., TAN, R. J., OURY, T. D. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis. American journal of respiratory and critical care medicine, 2005, Vol. 172, str. 417-422

¹⁰⁰ VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STRÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. Alergie, 2008, č. 4, str. 283-290

proteiny (kináza beta) a pro degradaci extracelulární matrix (matrixmetaloproteináza 1 - MMP 1, MMP 2, MMP 7, MMP 9). Třetí skupinou vysoce exprimovaných genů jsou geny pro prozánětlivé cytokiny, chemokiny a antioxidanty a čtvrtou skupinou geny kódující anuloid a imunoglobuliny. Exprese třetí a čtvrté skupiny genů podporuje dříve zavrženou hypotézu o chronickém zánětu jako důležitém faktoru u IPF.

Idiopatická plicní fibróza ovlivňuje nejen plicní parenchym, ale také vaskulaturu. Za fyziologických podmínek jsou v plicích angiogenní i angistatické stimuly v rovnováze, v případě IPF však dochází k posunu této rovnováhy a rozvoji aberantní angiogeneze. Hlavními faktory, které podporují angiogenezi, jsou bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) a angiogenní CXC chemokiny obsahující motiv ELR (kyselina glutamová, leucin, arginin). Sekrece angiogenních CXC chemokinů je pozitivně stimulována lipopolysacharidy, TNF α a interleukinem 1 β (IL-1 β). Exprese CXC chemokinů v plicní tkáni a angiogenního interleukinu 8 (IL-8) byla výrazně zvýšena u pacientů s IPF. Lokalizace exprese IL-8 korelovala s nakupením fibroblastů a extracelulární matrix.

Existuje mnoho teorií o původu fibroblastů a myofibroblastů v plicní tkáni pacientů s IPF. Současná teorie podporuje myšlenku mimoplicního původu fibroblastů, které pochází z kostní dřeně a jsou atrahovány do míst tkáňového poranění, kde přispívají k fibrotizaci plicní tkáně.

Další ze zkoumaných cest patogeneze idiopatické plicní fibrózy je vliv hepatocytového růstového faktoru – hepatocyte growth factor (HGF) na fibroblasty. Produkce HGF z prekursoru pro-HGF je regulována aktivátorem – serinovou proteázou - (HGFA) a inhibována specifickými inhibitory (HAI-1, HAI-2). Předpokládá se, že HGF má protektivní vliv proti vzniku plicní fibrózy, ale fibroblasty u nemocných s IPF mají sníženou schopnost exprese HGFA, což vysvětluje významně snížené množství aktivního HGF. Je rovněž pravděpodobné, že fibroblasty pacientů s IPF mají sníženou i schopnost apoptózy a že jsou chráněné proti apoptóze mediované Fas inhibitory

apoptózy (IAP). Například ILP-X chromosome-linked IAP (ILP), které zvýšeně exprimují fibroblasty nemocných s IPF, přímo inhibují kaspázu-3^{101, 102}.

3. Zánětlivé změny

Dříve se předpokládalo, že IPF vzniká jako reakce na zánětlivý proces, jenž přešel do chronického stadia. Chronické zánětlivé dráždění plicní tkáně mělo posléze vést k fibrotickému procesu. Na základě této domněnky se v terapii začaly užívat kortikosteroidy a imunosupresiva, avšak bez úspěchu.

Dnes předpokládáme, že působením neznámého stimulu dochází k opakovanému poškození výstelky plicních sklípků, což vyúsťuje v nekontrolované a progredující jizvení. K výskytu zánětlivé reakce může někdy dojít až sekundárně.

Zánětlivá odpověď plicní tkáně u IPF odpovídá především typu T_H2 reakce, což by mohlo poukazovat na možný geneticky podmíněný vliv cytokinů, či přítomnost stimulu spouštějícího právě zvýšenou tvorbu T_H2 cytokinů. Alveolární makrofágy jsou u IPF prostřednictvím T_H2 cytokinů pravděpodobně tzv. alternativně aktivovány a zvyšují pak produkci fibronektinu, čímž indukují fibrogenezi ve fibroblastech. Během této alternativní aktivace makrofágy produkují zvýšené množství chemokinu CCL18 (PARC)¹⁰³.

4. Role oxidačního stresu

ROS a oxidační stres se v patogenezi IPF pravděpodobně podílí na vzniku iniciálních mikroskopických lézí alveolárního epitelu a znemožňují úspěšné zhojení těchto lézí bez významné fibroprodukce. Zánětlivé buňky pacientů s IPF produkují vyšší množství oxidantů než buňky kontrolních pacientů. V bronchoalveolární lavážní tekutině nacházíme zvýšenou koncentraci myeloperoxidázy (enzym obsažený v azurofilních granulích neutrofilů

¹⁰¹ VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STRÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. *Alergie*, 2008, č. 4, str. 283-290

¹⁰² ŠTERCLOVÁ, M. Chemokiny a jejich receptory v patogenezi idiopatické plicní fibrózy. *Alergie*, 2007, č.1, str. 39-44

¹⁰³ VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STRÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. *Alergie*, 2008, č. 4, str. 283-290

a lyzosomech monocytů) a eozinofilního kationického proteinu (ECP; jeden z hlavních proteinů uvolňujících se z cytoplazmatických granul aktivovaných eozinofilů), což potvrzuje účast neutrofilů a pravděpodobně také eozinofilů na patogenezi IPF. Bylo rovněž prokázáno, že zvýšené množství myeloperoxidázy při IPF je spojeno s oxidativním poškozením epitelu.

Mitochondriální produkce ROS má přímý vztah nejen ke vzrůstajícímu buněčnému oxidačnímu stresu, ale je také spojena s apoptózou alveolárních epitelálních buněk.

Alveolární makrofágy (AM) v bronchoalveolární lavážní tekutině u nemocných s IPF mají dvakrát až patnáctkrát vyšší proliferační index při srovnání s AM u zdravých jedinců a tvoří také ve zvýšené míře ROS. AM pacientů s IPF jsou mohutnými producenty superoxidového radikálu a peroxidu vodíku, syntetizují také ve zvětšeném množství řadu cytokinů a chemokinů (IL-8, MIP-1 α a MCP), které stimulují migraci neutrofilních leukocytů a monocytů z plicních kapilár. Neutrofily jsou rovněž výkonnými producenty ROS. Mimo AM jsou u těchto nemocných aktivovány i monocyty z periferní krve, které produkují zvýšené množství TNF α ¹⁰⁴.

V bronchoalveolární lavážní tekutině nemocných s IPF nacházíme také zvýšené množství 8-izoprostanu (ukazatel oxidačního stresu). Ve vydechovaném vzduchu pacientů se vyskytuje ve zvýšené koncentraci oxid dusnatý a v plicních tkáňových vzorcích je zvýšená exprese iNOS. Tyto nálezy dokazují, že u pacientů s IPF dochází jak k oxidačnímu stresu, tak i ke stresu způsobenému reaktivními formami dusíku.

Přítomnost nerovnováhy mezi oxidanty a antioxidanty u IPF potvrzují rovněž změněné hladiny antioxidantů v plicích pacientů. U těchto nemocných nacházíme např. snížené množství redukováného glutathionu v epitelální výstelce plic. Některé studie předpokládají, že množství antioxidačních a detoxifikačních enzymů (MnSOD, KAT, thioredoxin aj.) se u zánětlivých a granulomatózních intersticiálních plicních onemocnění a v oblastech probíhající regenerace epitelu zvyšuje. Avšak koncentrace těchto enzymů je v plicích

¹⁰⁴ ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, 2000, str. 112

(konkrétně ve fibrotických lézích) pacientů s IPF nízká nebo dokonce tyto enzymy chybí úplně.

Na rovnováze oxidačních a antioxidačních mechanismů, která je při oxidačním stresu narušená, závisí také rovnováha systému proteáz a antiproteáz. Jejich nerovnováha může být jednou z příčin udržování bludného kruhu nekontrolovatelné fibroprodukce. Hlavními reprezentanty proteázového/antiproteázového systému jsou matrixmetaloproteinázy (MMP) a tkáňové inhibitory MMP (TIMP). Význam účasti proteáz na patogenezi IPF byl zdůrazněn nálezem zvýšené exprese matrixmetaloproteinázy 7 v plicích pacientů s IPF. I další matrixmetaloproteinázy se u IPF vyskytují ve zvýšeném množství. Podstatné je, že jak ROS, tak RNS mohou narušit rovnováhu mezi proteázami a antiproteázami díky své schopnosti aktivovat MMP a inaktivovat proteázové inhibitory. Například kyselina chlorná aktivuje MMP-7. Peroxid vodíku, peroxynitrit a oxidanty produkované systémem xanthin/xanthinoxidáza mohou aktivovat jak MMP-2, tak MMP-9. MMP-9 může být rovněž aktivována oxidem dusnatým. ROS však nemusí proteázy pouze aktivovat, ale mají schopnost je také inaktivovat. Je pravděpodobné, že teprve lokální koncentrace ROS nebo RNS určí, zda dojde k aktivaci či inaktivaci MMP. Nejdůležitějšími antioxidanty, které brání oxidativní aktivaci MMP, jsou glutathion a extracelulární superoxiddismutáza. I přes tuto ochranu se však oxidativní a proteolytické procesy mohou navzájem podporovat a zesilovat, což způsobí propagaci poškození, které vede k plicní fibróze.

Velmi citlivým k oxidačnímu stresu je rovněž inhibitor α_1 -proteinázy (α_1 PI). Jeho inaktivaci může způsobit peroxynitrit nebo oxidanty produkované myeloperoxidázou či xanthinoxidázou. Absence činnosti α_1 PI je spojena s rozvojem plicní fibrózy, což bylo dokázáno na myších léčených α_1 PI, které byly při této experimentální terapii rezistentní k plicní fibróze. Z toho vyplývá, že oxidativní inaktivace α_1 PI přispívá k patogenezi IPF^{105, 106}.

ROS (či RNS) způsobují jednak přímé poškození plicních buněk a matrix, ale mohou k rozvoji idiopatické plicní fibrózy přispívat také nepřímo,

¹⁰⁵ WALTERS, D. M., CHO, H.-Y., KLEEBERGER, S. R. Oxidative Stress and Antioxidants in the Pathogenesis of Pulmonary Fibrosis: A Potential Role for Nrf2. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2008, Volume 10, No. 2, str. 321-332

¹⁰⁶ KINNULA, V. L., FATTMAN, CH. L., TAN, R. J., OURY, T. D. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2005, Vol. 172, str. 417-422

prostřednictvím ovlivnění cytokinů a růstových faktorů, které se v patogenezi IPF rovněž významně uplatňují. Jedním z těchto mediátorů je transformující faktor β (TGF- β), který je klíčovým regulátorem jak fyziologického procesu reparace, tak i patologických reparačních mechanismů (typických pro IPF). TGF- β 1 je uvolněn velmi brzy po poškození plicních struktur. Nejprve působí jako prozánětlivá molekula a chemotakticky přitahuje zánětlivé buňky. Později dojde ke změně prozánětlivé funkce a TGF- β 1 začíná fungovat jako iniciátor reparace. Předpokládá se, že chronická fibróza je způsobena nepřerušným pokračováním reparačních procesů po ukončení zánětlivých reakcí. TGF- β je proto důležitým mediátorem patologických reparačních procesů. Tento transkripční růstový faktor je například hlavním regulátorem aktivace a diferenciací myofibroblastů. Myofibroblasty diferencované pod vlivem TGF- β jsou přímým zdrojem ROS. TGF- β rovněž indukuje transkripci kolagenu typu I. a fibronektinu ve fibroblastech, čímž se zásadně zapojuje do patologického hojení alveolárních lézí způsobených inzulty¹⁰⁷.

5. Využití antioxidantů v terapii

Na zvířecích modelech bylo prokázáno, že expozice některým vnějším činitelům (např. azbestu, radiaci či některým lékům) může způsobit rozvoj plicní fibrózy kvůli zvýšenému oxidačnímu stresu. Na těchto modelech byl však rovněž dokázán účinek léčby antioxidanty při ochraně plic. Nejvíce zkoumanými molekulami na těchto zvířecích modelech jsou glutathion (přestože pouze minimálně přestupuje přes membrány a navíc způsobuje řadu vedlejších účinků včetně bronchokonstrikce), N-acetylcystein (NAC) a SOD. NAC zlepšuje homeostázu glutathionu tím, že zvyšuje hladinu cysteinu (klíčového substrátu při syntéze glutathionu). NAC také signifikantně snižuje primární zánětlivou reakci, depozici kolagenu i progresi bleomycinem navozené plicní fibrózy. Další široce zkoušenou skupinou antioxidantů je superoxiddismutáza a její deriváty. Enkapsulovaná SOD, liposomální preparáty se SOD a rekombinovaná MnSOD poskytly u zvířecích modelů významnou ochranu před IPF. Protože však tyto sloučeniny způsobovaly imunogenní komplikace, byly vyvinuty nízkomolekulární

¹⁰⁷ VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STRÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. *Alergie*, 2008, č. 4, str. 283-290

SOD, které snižují oxidační stres, plicní zánět a chrání plíce u mnoha zvířecích modelů. Přesto však tyto sloučeniny nebyly dosud testovány na lidech ¹⁰⁸.

Dalším antioxidantem, který by mohl přinést pozitivní výsledky v pomocné terapii IPF, je α -tokoferol. Tato látka má významný vliv na stabilitu buněčných membrán. Dále bylo zjištěno, že zmírňuje bleomycinem navozenou plicní fibrózu a rovněž zvyšuje hladinu glutathionu a aktivitu katalázy ¹⁰⁹.

Zatím jediným z nově zkoušených léčebných postupů, který se již vřadil do terapeutického schématu v širším klinickém užití, je antioxidačně působící N-acetylcystein. Tato látka při dlouhodobém podávání v denní dávce 1800 mg a v kombinaci se střední dávkou kortikoidů a 150 mg azathioprinu statisticky významně zpomaluje pokles plicních funkcí, i když zatím není prokázáno, že by měla pozitivní vliv na dlouhodobé přežití ¹¹⁰.

¹⁰⁸ KINNULA, V. L., FATTMAN, CH. L., TAN, R. J., OURY, T. D. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis. American journal of respiratory and critical care medicine, 2005, Vol. 172, str. 417-422

¹⁰⁹ WALTER, D. M., CHO, H.-Y., KLEEBERGER, S. R., Oxidative Stress and Antioxidants in the Pathogenesis of Pulmonary Fibrosis: A Potential Role for Nrf2. Antioxidants & Redox Signaling, 2008, Volume 10, No. 2, str. 321-332

¹¹⁰ VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STRÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. Alergie, 2008, č. 4, str. 283-290

F) KOUŘENÍ

Kouření má k onemocněním respiračního systému přímý vztah. U některých nemocí je dokonce hlavním etiologickým faktorem (chronická bronchitida, emfyzém, chronická obstrukční plicní nemoc či bronchogenní karcinom), u dalších se na patogenezi ve větší či menší míře podílí (syndrom dechové tísně dospělých, asthma bronchiale, virové a bakteriální infekce či idiopatická plicní fibróza).

Kouření je absolutně nejnebezpečnější návyk, při kterém organismus pohlcuje vysoké množství škodlivých látek. Přestože mají lidé přístup k dostačujícímu množství informací o škodlivosti kouření, zůstává tento zlovyk jedním z nepodstatnějších problémů narušujících lidské zdraví.

Životní styl kouřících osob se obecně vyznačuje vyšším přívodem energie, celkového tuku, saturevaného tuku, cholesterolu, alkoholu, nižším obsahem nenasycených mastných kyselin v potravě, nedostatkem vlákniny a hyposaturací vitaminy s antioxidačním účinky. Kuřák ztrácí průměrně osm let z očekávané délky života nekuřáka. V České republice se konzumuje ročně kolem 20 miliard cigaret ročně a více než 20 000 osob ročně v ČR na následky kouření umírá. Kuřáctví (jak aktivní, tak i pasivní) se podílí především na chronických plicních, kardiovaskulárních a nádorových onemocněních. Rozdíl mezi aktivním a pasivním kouřením, tedy vdechováním tabákového kouře nekuřícími osobami, je pouze v koncentraci vdechovaných škodlivin. Pro část negativních účinků (např. bodové mutace způsobené kancerogeny) nemusí být koncentrace toxických látek z tabákového kouře nikterak vysoká a nebezpečné jsou i nízké koncentrace těchto látek. Platí to zejména, jde-li o expozici opakovanou nebo dlouhodobou, např. sdílení společných prostor s kuřáky na pracovišti či doma.

Tab. 8 Patofyziologické důsledky aktivního a pasivního kouření ¹¹¹

oxidační stres	• uvolnění volných radikálů
endoteliální dysfunkce	• morfologické a funkční změny endotelu
porucha funkce destiček	• aktivace destiček • zvýšená agregabilita
aktivace zánětu	• elevace leukocytů • sekrece cytokinů
hemodynamické změny	• zvýšení srdeční frekvence v klidu • chronotropní inkompetence • vazokonstrikce • krátkodobé zvýšení krevního tlaku
porucha metabolismu lipidů	• zvýšená hladina a oxidace LDL-cholesterolu • snížení hladiny HDL-cholesterolu
porucha hemostázy	• zvýšená hladina fibrinogenu • snížená sekrece endogenního TPA*
*tkáňový aktivátor plazminogenu	

Tabákový kouř má velmi komplexní složení. Je tvořen plynnou fází (asi z 90 %) a tuhými částicemi, které obsahují kromě dehtu až 4000 různých látek (z tohoto množství je minimálně padesát látek prokázanými karcinogeny – kadmium, nitrosoaminy, benzo(a)pyren a další karcinogenní polycyklické aromatické uhlovodíky). Kromě základních komponent jako je dehet, oxid uhelnatý, oxidy dusíku (NO[•] se v cigaretovém kouři nachází v koncentraci 500-1000 ppm) a nikotin, je nutné zmínit také těkavé uhlovodíky (např. 1,3-butadien), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), aromatické aminy (např. o-toluidin, 2-naftylamin, 4-aminobifenyl), chlorované látky (dioxiny), nitrosoaminy, těžké kovy (kadmium, chrom, rtuť, olovo, nikl, arsen) či radioaktivní izotopy (radon nebo ²¹⁰polonium). Méně kvalitní cigarety mohou obsahovat také pesticidy. Vysoce návykovou látkou, která se nachází v cigaretovém kouři, je nikotin. Ve většině případů však kuřáci netrpí fyzickou závislostí na této látce, ale jejich závislost má psychický a sociální podklad. Kouření však poškozuje kuřáky především svými volnými radikály.

Do oblasti alveolů se po vykouření jedné cigarety dostává až 10¹⁷ volných radikálů, které způsobí inaktivaci proteáz, peroxidaci lipidů buněčných membrán (stoupá hladina malondialdehydu), aktivaci některých transkripčních faktorů

¹¹¹ GOLÁŇ, L. Vliv kouření na morfolologii a funkci kardiovaskulárního aparátu. Interní medicína, 2007, 9(9), str. 386-388

(NF- κ B) a genů a chyby v DNA, vedoucí k buněčnému poškození či ke smrti buňky. Volné radikály se dále podílí na zvýšení alveolární permeability a plicní clearance (pravděpodobně následkem lipoperoxidace). ROS mají u kuřáků vliv i na zvýšenou migraci neutrofilů z plicních kapilár do intersticia a alveolů. Zatímco nekuřáci mají v oblasti alveolů do 1 % neutrofilních leukocytů, u kuřáků se jejich počet zvyšuje až na 5-7 %. Neutrofily dále zvyšují oxidační stres v oblasti plicní periferie a navozují poškození v oblasti bronchiolů a alveolů. V periferní krvi kuřáků lze navíc prokázat také aktivaci mononukleárních buněk.

Klíčovým projevem zánětu u kuřáků je aktivace makrofágů. Makrofágy stimulující protein (MSP) zvyšují produkci superoxidu, peroxynitritu, uvolňování cytokinů IL-1, IL-10, TNF a aktivaci NF-B. Kouř z cigaret také potlačuje tvorbu T-lymfocytů, což u kuřáků zvyšuje náchylnost k respiračním infekcím i vzniku nádorů. Vystavení lidských T-buněk dehtu z cigaret působí okamžitý pokles syntézy DNA.

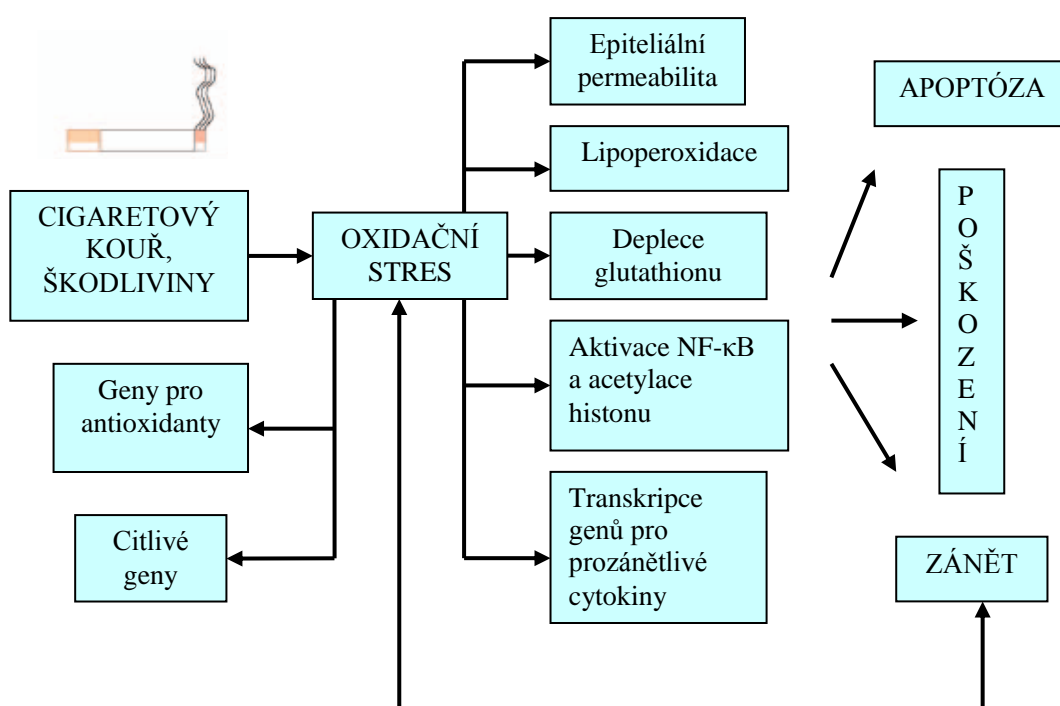
Černá pigmentace plic je u kuřáků způsobena pravděpodobně depozity železa, které pochází z drobných hemoragií. Železo v této formě přispívá ke zhoršení oxidačního stresu katalýzou tvorby ROS a oxidačního poškození biomolekul. V důsledku probíhajícího zánětu se uvolňuje elastáza, která ničí elastická vlákna a poškozuje i α_1 -antitrypsin, což vede k rozvoji emfyzému.

Bronchopulmonální epiteliální buňky představují první a nejdůležitější linii ochrany před cigaretovým kouřem. Na tyto buňky působí hlavně plynná fáze kouře. Na každých 500 ml vdechnutého vzduchu při kouření připadá asi 350 ml cigaretového kouře. 350 ml se vydechne, ale 150 ml se dostane do bronchů. Průměrný člověk inhaluje přibližně 10^{10} prachových částic denně. Toto množství si kuřáci svým zlovykem dobrovolně několikanásobně zvyšují. Dehtové částice o průměru 0,2-5 μ m obsažené v kouři se deponují v tekutině, která pokrývá řasinky bronchopulmonálního epitelu. Mucus, který je zdrojem důležitých antioxidantů, chrání dýchací cesty od trachey až po konec bronchů. Každá bronchoepiteliální buňka má 200 řasinek. Tyto řasinky se kontinuálně pohybují směrem k laryngu a odstraňují mucus. Dehtové částice zvyšují produkci mucusu a aktivují čistící mechanismus. Pokud je však tento ochranný systém řasinek poškozen toxickými látkami a pohyb řasinek paralyzován, stávají se bronchoepiteliální buňky cílem pro toxické a kancerogenní částice. Ztráta

řasinek nastává např. účinkem akroleinu nebo oxidu dusičitého. Mucus není odstraňován a mění svou viskozitu. Vzniká tak lokálně příznivá situace pro rozvoje některých plicních onemocnění.

Zvýšenou oxidační zátěž u kuřáků můžeme prokázat např. měřením zvýšeného množství nízkomolekulárních uhlovodíků ve vydechovaném vzduchu (pentan) či zvýšeného množství isoprostanů nebo 8-hydroxy-deoxyguanosinu (8-OHdG) v moči ^{112, 113, 114}.

Obr. 10 Mechanismus oxidačního poškození plic účinkem cigaretového kouře ¹¹⁵



U kuřáků se rovněž snižuje antioxidační kapacita plazmy (signifikantně klesá již za jednu hodinu po vykouření jedné až dvou cigaret), hladina vitaminů C a E, β -karotenu, selenu a redukováného glutathionu. Nedostatek vitaminu

¹¹² RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály a kouření. Klinická biochemie a metabolismus, 1998, 6 (27), No.1, str. 14-16

¹¹³ ĎURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíně II. Slovak Academic Press, 1999, str. 19-21

¹¹⁴ HOLEČEK, V., ROKYTA, R. Vliv kouření a volných radikálů na antioxidační ochranu a patogenezi některých nemocí. Praktický lékař, 2008, 88, č. 1, str. 22-30

¹¹⁵ RAHMAN, I. Oxidative Stress in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Cell Biochemistry and Biophysics, 2005, Vol. 43, str. 170

C zvyšuje adhezivitu monocytů na cévní endotel. Snížená redukční aktivita může vést k situaci, kdy kyselina dehydroaskorbová není dostatečně redukována, čímž se intracelulárně zvyšuje také koncentrace α -tokoferylového radikálu, který může podporovat lipoperoxidaci buněčné membrány. Podobně se může chovat i β -karotenový radikál, který se v oxidoredukčním řetězci řadí mezi vitamin E a C (β -karoten tedy odstraňuje radikál α -tokoferylový a sám je odstraňován askorbylovým radikálem).

Z těchto faktů by mohlo vyplynout, že podávání exogenních antioxidantů zlepší nerovnováhu mezi oxidanty a antioxidanty a vyrovná negativní vliv kuřáctví. Avšak ve studiích zatím nebylo dosaženo jednoznačných výsledků ani potvrzení tohoto předpokladu. Naopak některé práce poukazují na zvýšený výskyt karcinomu plic u chronických kuřáků po suplementaci β -karotinem.

Nebylo tedy prokázáno, že antioxidanty prodlužují lidský život, ale určitě snižují počet předčasných úmrtí na nemoci, které jsou volnými radikály způsobeny. Delší podávání vitaminu C zvyšuje následně i hladinu glutathionu v lymfocytech. Významnou ochranou před zhoubným bujením je selen, kterého je však v potravě nedostatek. Selen je vstřebáván nádorovou buňkou, kde po reakci s glutathionem dochází k těžkému poškození nádorové buňky a jejímu zániku. Udává se, že podávání 300 mg selenu denně je prevencí před vznikem karcinomu. Ovšem bezpečná dávka je 250 mg/den, proto musí být jeho hladina u pacientů kontrolována. Významným antioxidantem je vitamin C, jehož účinek může snižovat hladinu superoxidového radikálu, oxidaci LDL-cholesterolu. Dále se mohou účinkem vitaminu C redukovat dusitany na NO či aktivovat endoteliální NO syntéza. Účinek kombinace tohoto antioxidantu (1 g vitaminu C/den) a vitaminu E (500 mg/den) po 25 denní aplikaci odezní za čtyři týdny. Allopurinol, který inhibuje xanthinoxidázu produkující superoxid, snižuje u kuřáků endotelovou dysfunkci i porušenou odpověď bradykininu. Podávání ibuprofenu snižuje adhezi monocytů na lidské endoteliální buňky umbilikálních cév, potlačuje oxidační stres a zvyšuje HDL-cholesterol. Denní podávání ovoce chronickým kuřákům snižuje hladinu lipidových peroxidů. Vysoká hladina malondialdehydu u kuřáků poklesla po třicetidenní suplementaci ovocnou a zeleninovou šťávou. Podávání směsi antioxidantů s poměrně vysokou AOC působilo mírné snížení cholesterolu,

triacylglycerolů a apolipoproteinu B a tiocyanátů v séru. Stoupl β -karoten, aktivita GPx a klesla hladina malondialdehydu ^{116, 117}.

¹¹⁶ HOLEČEK, V., ROKYTA, R. Vliv kouření a volných radikálů na antioxidační ochranu a patogenezi některých nemocí. Praktický lékař, 2008, 88, č. 1, str. 22-30

¹¹⁷ ČERNÁ, M. Může suplementace vitaminem C ovlivnit zdravotní rizika vyplývající z kuřáctví?. České pracovní lékařství, 2001, č. 1, str. 32-35

ZÁVĚR

Nadprodukce volných radikálů a deplece antioxidantů vede k porušení rovnováhy oxidačně-antioxidačního systému a vyvolává oxidační stres, který se může podílet na patogenezi mnoha onemocnění, včetně onemocnění respiračního systému. V některých případech může být oxidační stres přímo vyvolávající příčinou, jindy se na rozvoji onemocnění alespoň z části podílí či zhoršuje jeho průběh.

Antioxidační systém zdravého jedince je za předpokladu dostatečného přísunu antioxidantů a stopových prvků schopen zajistit ochranu před škodlivými účinky volných radikálů. U nemocných pacientů se však tato schopnost snižuje, přičemž probíhající oxidační stres je možné prokázat mnohými stanoveními (ve vydechovaném vzduchu, v moči či bronchoalveolární lavážní tekutině). Na základě těchto poznatků se nabízí možnost podávání antioxidantů jako součást podpůrné a kompenzační terapie onemocnění s prokázanou nadprodukcí volných radikálů. Aby však tato léčba byla efektivní a bezpečná, je vždy nutný přísně individuální přístup k pacientovi a k jeho onemocnění. Zároveň musí být respektována složitost, komplexnost a propojenost antioxidačního ochranného systému a zásahy, které hodláme v rámci terapie učinit, musí být podpořeny správnou diagnózou a aktuálním stavem antioxidačního systému daného pacienta. V tomto bodě však narážíme na komplikace v důsledku neúplného poznání mechanismu působení oxidantů na antioxidační systém a jejich zapojení do vzniku a vývoje konkrétních onemocnění. Dalším problémem při použití antioxidantů v současné terapii je fakt, že nejsme schopni přesně určit, jaký podíl z podané dávky nakonec proti volným radikálům skutečně působí. Klasické antioxidanty např. nejsou schopny pronikat do mitochondrií, kde však velká část volných radikálů vzniká. Hledají se proto cesty, jak doručit antioxidanty právě do mitochondrií. Výzkum je teprve na počátku, avšak slibnou se zdá být skupina kationtů pronikajících membránou (membrane-penetrating cations) jako je např. triphenylphosphonium (TPP).

Další možností, jak terapeuticky ovlivnit množství volných radikálů, by mohla být regulace jejich vzniku. V tomto ohledu se nyní začínají zkoumat

specifické inhibitory enzymů, které se na vzniku VR podílejí (např. inhibitory NADPH-oxidáz), avšak i zde je výzkum zatím na počátku.

Pro výše zmíněnou neúplnost našich poznatků v dané oblasti je tato problematika stále vhodná k dalšímu výzkumu, jehož součástí je také hledání optimálních postupů v antioxidační terapii, která se možná jednou stane nenahraditelnou součástí léčby mnoha onemocnění, na jejichž patogenezi se volné radikály podílí.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ

VOKURKA, M. Praktický slovník medicíny. 3. vyd. Praha: Maxdorf, 1995, 409 s.

ISBN 80-85800-27-6.

BABIČKOVÁ, L., SKŘIČKOVÁ, J. Bronchogenní karcinom. Onkologická péče, 12, 2008, č. 4, str. 2-4.

BOWLER, R., CRAPO, J. Oxidative stress in allergic respiratory diseases. Molecular mechanisms in allergy and clinical immunology, 2002, str. 349-356.

ČERNÁ, M. Může suplementace vitaminem C ovlivnit zdravotní rizika vyplývající z kuřáctví?. České pracovní lékařství, 2001, č.1, str. 32-35.

ČERNÝ, V., ŽIVNÝ, P. Vliv intravenózního podávání alfa-tokoferolu na oxygenaci, hemodynamický profil a stupeň lipoperoxidace u nemocných s ARDS. Anesteziologie a neodkladná péče, 1998, č.3, str. 100-106.

CIENCEWICKI, J., TRIVEDI, S., KLEEBERGER, S. Oxidants and the pathogenesis of lung diseases. Journal of allergy and clinical immunology, 2008, Vol. 122, No. 3, str. 456-468.

ĐURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidy v medicíně I. 1. vyd. Bratislava: Slovak Academic Press 1998, 285 s. ISBN 80-88908-11-6.

ĐURAČKOVÁ, Z. Volné radikály a antioxidy v medicíně II. 1. vyd. Bratislava: Slovak Academic Press 1999, 315 s. ISBN 80-88908-46-9.

DWORSKI, R. Oxidant stress in asthma. Thorax, 2000, 55 (Suppl 2), str. 51-53.

FIALA, J. Rakovina: Epidemiologie, etiologie, prevence. Dostupné na World Wide Web: <http://www.med.muni.cz/~mpesl/trafficjam/Preventivni/P_edn_ka_n_dory%5B1%5D.19.9.05.pps>.

GOLÁŇ, L. Vliv kouření na morfologii a funkci kardiovaskulárního aparátu. Interní medicína, 2007, 9 (9), str. 386-388.

HENRICKS, P., NIJKAMP, F. Reactive Oxygen Species as Mediators in Asthma. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2001, 14, str. 409–421.

HLÚBIK, P., STŘÍTECKÁ, H., FAJFROVÁ, J. Antioxidanty v klinické praxi. Praktické lékařství, 2006, č. 6, str. 254-256.

HOLEČEK, V., ROKYTA, R. Vliv kouření a volných radikálů na antioxidační ochranu a patogenезi některých nemocí. Praktický lékař, 2008, 88, č. 1, str. 22-30.

HOLUB, M. Patogeneze akutního syndromu dechové tísně (ARDS). Klinická mikrobiologie a infekční lékařství, 2003, č. 4, str. 171-176.

CHABOT, F., MITCHELL, J. A., GUTTERIDGE, J. M. C., EVANS, T. W. Reactive oxygen species in acute lung injury. European Respiratory Journal, 1998, 11, str. 745–757.

CHLÁDKOVÁ, J., CHLÁDEK, J., HOSPODKA, M., ČÁP, P. Oxid dusnatý a jiné reaktivní dusíkaté látky v dýchacích cestách: metody a význam jejich stanovení při monitorování zánětu. Alergie, 4/2003, str. 298-302.

KAMENÍKOVÁ, L. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Solutio, 2000/2001,

Dostupné na World Wide Web: <<http://www.medon-solutio.cz>>

<http://www.medon-solutio.cz/main.php?clanek=2000&rok=2001&e=&akce=1&nl=1&right=zobraz_text.php&left=left.php&bottom=obsah.php>.

KAŠÁK, V. Diferenciální diagnóza asthma bronchiale a chronické obstrukční plicní nemoci.

Alergie, 2000, č. 2, Dostupné na World Wide Web:

<<http://www.tigis.cz/alergie/ALERG200/09.kasak.htm>>.

KAŠÁK, V., ŠPIČÁK, V., POHUNEK, P. Asthma bronchiale. ČSL JEP, Doporučné postupy pro

praktické lékaře, Dostupné na World Wide Web: <<http://www.cipa.cz/navrh-pece-o-astma>>.

KINNULA, V. L., FATTMAN, CH. L., TAN, R. J., OURY, T. D. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis. American journal of respiratory and critical care medicine, 2005, Vol. 172, str. 417-422.

KIRKHAM, P., RAHMAN, I. Oxidative stress in asthma and COPD: Antioxidants as a therapeutic strategy. Pharmacology & Therapeutics, 2006, 111, str. 476–494.

KOLEK, V. Současné názory na používání mukolytik. Farmakoterapie, 1/2006, str. 101-105.

KOTTOVÁ, M., POUROVÁ, J., VOPRŠALOVÁ, M. Oxidační stres a jeho role v respiračních onemocněních. Česká a slovenská farmacie, 2007, 56, č. 5, str. 215-219.

LALA, P. K., CHAKRABORTY, CH. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. The Lancet Oncology, March 2001, Vol 2, str. 149-156.

LEWANDOWSKI, K., LEWANDOWSKI, M. Epidemiology of ARDS. *Minerva anesteziologica*, 2006, Vol. 72, No. 6, str. 473-477.

MACINTYRE, N. The Mechanics of ARDS. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.medscape.com/viewarticle/514525>>.

MACNEE, W. Pulmonary and Systemic Oxidant/Antioxidant Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proceedings of the American thoracic society*, 2005, Vol. 2, str. 50-60.

MACNEE, W. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proceedings of the American thoracic society*, 2005, Vol. 2, str. 258-266.

MATOULOKOVÁ, P. *Studie Broncus. Remedia*, 2005, str. 292.

MÖLLER, P., FOLKMANN, J. K., FORCHHAMMER, L., BRÄUNER, E. V., DANIELSEN, P. H., RISOM, L., LOFT, S. Air pollution, oxidative damage to DNA, and carcinogenesis. *Cancer Letters*, 2008, 266, str. 84–97.

MURPHY, M., SMITH R. Targeting Antioxidants to Mitochondria by Conjugation to Lipophilic Cations. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2007, Vol. 47, str. 629-656.

MUSIL, J. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s CHOPN. *Lékařské listy*, 2007, č. 2, str. 5-9.

MUSIL, J. Patogeneze chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN). *Vnitřní lékařství*, 2004, 50, č. 9, str. 663-667.

NADEEM, A., NASPOD, A., SIDDIQUI, N. Oxidant–antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options, *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2008, 2(4), str. 215–235.

PAUK, N. Strategie moderní léčby chronické obstrukční plicní nemoci. *Farmakoterapie*, 1/2008, str. 67-82.

PEŠEK, M., RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály u onemocnění plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 1999, 59, č. 5, str. 211-215.

PEŠEK, M, RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály v patogeneze terapii karcinomu plic. *Studia pneumologica et phthiseologica*, 2000, 60, č. 3, str. 99-103.

RACEK, J. Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. 1. vyd. Praha: Galén, 2003, 90 s. ISBN 80-7262-231-5.

RACEK, J., HOLEČEK, V. Volné radikály a kouření. *Klinická biochemie a metabolismus*, 1998, 6 (27), No. 1, str. 14-16.

RACEK, J., HOLEČEK, V. Vznik volných radikálů a enzymy. *Klinická biochemie a metabolismus*, 1999, 7 (28), No. 3, str. 158-163.

RACEK, J., HOLEČEK, V. Enzymy a antioxidační ochrana organismu, *Klinická biochemie a metabolismus*, 7 (28), 1999, No. 4, str. 232-238.

RACEK, J., HOLEČEK, V., TREFIL, L. Ubichinol Q-10 (koenzym Q-10). *Klinická biochemie a metabolismus*, 7 (28), 1999, No. 2, str. 92-95.

RACEK, J., NOVÁK, I., HOLEČEK, V., ŠRÁMEK, V. Oxid dusnatý – jeho metabolismus a význam pro organismus. *Anesteziologie a neodkladná péče*, 1999, č. 4, str. 169-173.

RAHMAN, I. Oxidative Stress in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2005, Vol. 43, str. 167-188.

RAHMAN, I., ADCOCK, I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *European respiratory journal*, 2006, Vol. 28, Num. 1, str. 219-242.

RICCIARDOLO, F., DI STEFANO, A., SABATINI, F., FOLKERTS, G. Reactive nitrogen species in the respiratory tract. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 533, str. 240–252.

SKLENOVSKÝ, A. Pokroky v patologické fyziologii II. Význam volných kyslíkových radikálů pro etiopatogenezu chorob., 2. vyd. Olomouc: Rektorát Univerzity Palackého v Olomouci 1992, 33 s. ISBN 80-7067-053-3.

SRBOVÁ, M., WILHELM, J. Markery obsažené ve vydechovaném vzduchu při plicních onemocněních. *Časopis českých lékařů*, 2003, 142, č. 3, str. 140-143.

ŠEVČÍK, P., SKŘIČKOVÁ, J., ŠRÁMEK, V. Záněty plic v intenzivní medicíně. 1. vyd. Praha: Galén, 2004, 189 s., ISBN 80-7262-278-1.

ŠTERCLOVÁ, M. Chemokiny a jejich receptory v patogenezi idiopatické plicní fibrózy. Alergie, 2007, č. 1, str. 39-44.

ŠTÍPEK, S. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2000, 320 s. ISBN 80-7169-704-4.

VALLYATHAN, V., SHI, X., CASTRANOVA, V. Reactive Oxygen Species: Their Relation to Pneumoconiosis and Carcinogenesis. Environmental Health Perspectives, 1998, Vol 106, Suppl. 5, str. 1151-1155.

VAŠÁKOVÁ, M., ŠTERCLOVÁ, M., STŘÍŽ, I. Idiopatická plicní fibróza. Alergie, 2008, č. 4, str. 283-290.

VOKURKA, M. Praktický slovník medicíny. 3. vyd. Praha: Maxdorf, 1995, 409 s. ISBN 80-85800-27-6.

VONDRA, V., MALÝ, M. Závažné epidemiologické informace o nemocech dýchacího ústrojí na počátku třetího tisíciletí ve světě (i u nás). Medicína po promoci, 2007, Suppl. 1, str. 4-8.

VOTRUBA, J. Rakovina plic. Dostupné na World Wide Web:
<<http://www.lpr.cz/down/publikace/plic.doc>>.

WALTERS, D. M., CHO, H.-Y., KLEENBERGER, S. R. Oxidative Stress and Antioxidants in the Pathogenesis of Pulmonary Fibrosis: A Potential Role for Nrf2. Antioxidants & Redox Signaling, 2008, Volume 10, No. 2, str. 321-332.

INTERNETOVÉ ZDROJE:

<https://www.zdravcentra.sk/cps/rde/xchg/zcsk/xsl/47_1616.html>

<<http://patf.lf1.cuni.cz/stumat/bronch.pdf>>

SEZNAM UŽITÝCH ZKRATEK

AB	asthma bronchiale
AIDS	syndrom získaného imunodeficitu
ALI	akutní poškození plic (Acute Lung Injury)
AM	alveolární makrofágy
AO	antioxidanty
AOC	celková antioxidační kapacita plazmy
AP-1	transkripční faktor AP-1
ARDS	syndrom dechové tísně dospělých
ATP	adenosintrifosfát
ATPáza	enzym štěpící ATP (adenosintrifosfát)
BALT	bronchoalveolární lavážní tekutina
bFGF	fibroblastový růstový faktor
CMV	cytomegalovirus
CNS	centrální nervový systém
CoA	koenzym A
COX-2	cyklooxygenáza-2
CXC	rodina chemokinů ovlivňující angiogenezi (působí angiogenně nebo angisotaticky)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EBV	virus Epsteinova a Barrova
ECP	eozinofilní kationický protein
EC-SOD	extracelulární superoxiddismutáza
Fas inhibitory	inhibitory specifického receptoru smrti na povrchu buňky
FEV ₁	jednovteřinový usilovný výdech
FiO ₂	inspirační frakce kyslíku
GPx (GSHPx)	glutathionperoxidáza
GR	glutathionreduktáza
GS [·]	glutathionový radikál

GSH	redukovaný glutathion
GSSG	oxidovaný glutathion
GST	glutathiontransferáza
H ⁺	kationt vodíku
HAI	inhibitor hepatocytového růstového faktoru
H ₂ O	voda
H ₂ O ₂	peroxid vodíku
HCIO	kyselina chlorná
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě (High Density Lipoprotein)
HGF	hepatocytového růstového faktoru (Hepatocyte Growth Factor)
HGFA	aktivátor hepatocytového růstového faktoru
HIV	virus lidského imunodeficitu (Human Immunodeficiency Virus)
4-HNE	4-hydroxy-2,3- <i>trans</i> -nonenal
HO [·]	hydroxylový radikál
HPD	deriváty hematoporfyrin (Hematoporfyrin Derivates)
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
IAP	inhibitory apoptózy
ICAM-1	mezibuněčná adhezivní molekula-1
IgE	imunoglobulin E
IL	interleukin
ILP	IAP-like protein
iNOS	indukovatelné izoforma syntázy oxidu dusnatého
IPF	idiopatická plicní fibróza
IκB.	inhibiční protein faktoru NF-κB
Jun	transkripční faktor Jun, produkt onkogenu
KAT	kataláza
LDL	lipoprotein o nízké hustotě (Low Density Lipoprotein)
LOO	lipidový alkylperoxylový radikál
LOOH	lipidový hydroperoxid
LTB ₄	leuktrien B ₄
LTC ₄	leuktrien C ₄
LTD ₄	leuktrien D ₄

LTE4	leuktrien E4
MAPK	typ proteinkinázy (Mitogen Activating Protein Kinase)
MCP	typ chemoatraktantu pro monocyty (Monocyte Chemoattracting Protein)
MDA	malondialdehyd
MIP 1 α	makrofágový zánětlivý protein 1 α (Macrophage Inflammatory protein 1 α)
MLT	melatonin
MMP	matrixmetaloproteináza
MnSOD	superoxiddismutáza obsahující jako kofaktor atom manganu
MPO	myeloperoxidáza
MSP	makrofágy stimulující protein
NAC	N-acetylcystein
NADP ⁺	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NADPH	redukováný nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NF- κ B	transkripční faktor NF- κ B
NK buňka	buňka schopná ničit jiné buňky (Natural Killer)
NO [•]	oxid dusnatý
NO ⁺	nitrosylový kation
NO ⁻	nitroxylátový anion
NO ₂ [•]	radikál oxidu dusičitého
NOS	syntáza oxidu dusnatého
NSCLC	nemalobuněčný karcinom (Non Small Cell Lung Cancer)
O ₂	kyslík
O ₂ ^{•-}	superoxidový radikál
¹ O ₂	singletový kyslík
OH ⁻	hydroxidový ion (disociovaná voda)
8-OHdG	8-hydroxydeoxyguanosin
8-oxodG	8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosin
oxoGua	8-oxo-7,8- dihydroguanin
OONO ⁻	peroxynitrit
P _a O ₂	parciální tlak kyslíku
PARC	chemokinin CCL18

PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PON	paraoxonáza
α_1 PI	inhibitor α_1 -proteinázy
PUFA	polyenové mastné kyseliny
RANTES	protein, patřící do rodiny chemokinů
RNS	reaktivní formy dusíku (Reactive Nitrogen Species)
RO \cdot	alkoxylový radikál
ROO \cdot	alkylperoxylový radikál
ROS	reaktivní formy kyslíku (Reactive Oxygen Species)
RS \cdot	alkylsulfanylový radikál
SCLC	malobuněčný karcinom (Small Cell Lung Cancer)
SOD	superoxiddismutáza
TBARS	reaktivní substance kyseliny thiobarbiturové (ThioBarbituric Acid-Reactive Substance)
TF	transkripční faktor
TGF	transformující růstový faktor (Transforming Growth Factor)
TIMP	tkáňové inhibitory matrixmetaloproteinázy
TNF	tumorový nekrotizační faktor (Tumor Necrosis Factor)
TPP	triphenylphosphonium
UV	ultrafialová část spektra
VEGF	vaskulární endotelové růstový faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)
VR	volné radikály